

051

PRODUÇÃO DE GLUTATIONA-S-TRANSFERASE RECOMBINANTE DE HAEMAPHYSALIS LONGICORNIS PARA ESTUDOS CRISTALOGRAFICOS. *Filipe Thetinski Matzembacher, Aoi Masuda, Itabajara da Silva Vaz Junior (orient.) (UFRGS).*

Glutationa-S-transferases (GSTs) são um grupo de enzimas que catalisam a ligação entre glutatona (GSH) e diversas moléculas. GSTs possuem um papel fundamental na excreção de substâncias fisiológicas e xenobióticas, auxiliando na proteção celular contra estresse e toxicidade química. O carrapato *Haemaphysalis longicornis* é causador de grandes prejuízos econômicos na Ásia, seu controle é feito baseado no uso de acaricidas contendo diferentes princípios ativos. O objetivo foi obter a GST recombinante do carrapato *H. longicornis* para estudos cristalográficos. A bactéria *E.coli* 494(DE+) foi transformada com o plasmídeo pET 43-GST-HI. A bactéria foi crescida em meio SOB e a expressão da GST induzida por IPTG. O meio foi centrifugado e as bactérias rompidas por congelamento e descongelamento. Para purificação da rGST-HI o sobrenadante foi sonicado, filtrado e submetido à cromatografia de afinidade em sefarose acoplada com GSH. A rGST-HI foi eluída com tampão Tris-GSH. A purificação foi analisada por espectrofotometria e eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de SDS. A seguir, a GST foi submetida à diálise com água (requisito para cristalização de proteínas). Após a diálise, a atividade enzimática da GST foi determinada pela reação com o substrato sintético CDNB e GSH e as frações adequadas para a cristalização foram liofilizadas. Foram obtidas 15 mg de proteína com grau de purificação adequada para ser submetido à cristalografia. A seguir serão testados diversos protocolos para cristalização da proteína e também a cristalização da GST na presença de acaricidas. Apoio: CNPq, PRONEX, PADCT e Fapergs (Brasil) e JSPS (Japão).