

Caracterização Molecular da Região Codificante do gene da Enzima NTPDase em *Trypanosoma evansi*.

Luiz Claudio Miletto¹, Beatriz Suzana Machado², Paulo Henrique Exterchoter Weiss³

Palavras-chave: *Trypanosoma evansi*, NTPdase, cinética enzimática

As Nucleotídeos trifosfato difosfo-hidrolases (NTPDases) são enzimas que catalisam a hidrólise de vários nucleotídeos tri e difosfato em eucariotos e estão envolvidas e sinalização purinérgica, na via de salvamento de purinas e em interações patógeno-hospedeiro. Estas enzimas têm sido descritas recentemente em parasitas onde várias evidências indicados seu envolvimento na virulência do parasita e infecção. Neste trabalho investigamos a presença de NTPDase no genoma de *Trypanosoma evansi*, o tripanossoma com maior distribuição mundial. Formas tripomastigotas de *T. evansi* obtidas por infecção experimental em ratos Wistar foram purificadas por gradiente de Percoll[®] e cromatografia de troca iônica DEAE-celulose. Com base na sequência genômica da NTPdase de *T. brucei*, iniciadores foram desenhados para amplificar o gene correspondente NTPDases em *T. evansi*. Este gene de 1800bp foi amplificado por reação de PCR, extraído, purificado e clonado em um vetor pGEM-T-easy[®] O fragmento amplificado foi sequenciado e depois expresso em vetor pET 28a. A proteína correspondente foi expressa na forma solúvel e purificada até à homogeneidade e ensaios enzimáticos foram realizados confirmando a identidade da enzima. A especificidade de substrato foi determinada com uma série de nucleotídeos. Os parâmetros cinéticos e a dependência do pH sobre a atividade enzimática foram determinados.

¹ Orientador, Professor do Departamento de Produção Animal e Alimentos CAV-UDESC luiz.miletto@udesc.br.

² Acadêmico(a) do Curso de Medicina Veterinária da CAV-UDESC, bolsista de iniciação científica PIBIC/CNPq.

³ Acadêmico do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal