

# Transferência direta de elétrons da GOx e da dGOx utilizando fibras flexíveis de carbono como eletrodo de trabalho.

Andressa R. Pereira<sup>1</sup> (PG), Frank N. Crespilho<sup>1</sup> (PQ)\*

<sup>1</sup>Instituto de Química de São Carlos/IQSC, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil.

Palavras Chave: glicose oxidase, transferência direta de elétrons, deglicosilação de glicoproteínas, fibras flexíveis de carbono.

## Introdução

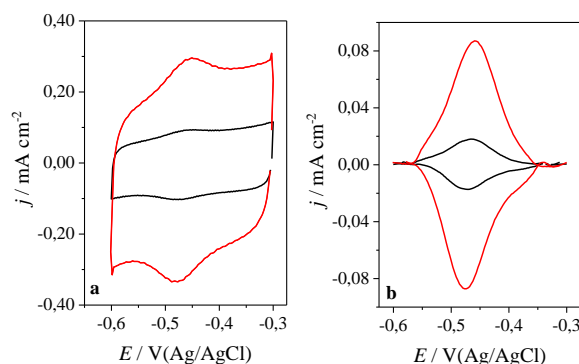
Atualmente diversos pesquisadores têm focado na obtenção da transferência direta de elétrons (TDE) entre enzimas e a superfície de eletrodos<sup>1,2</sup>. A TDE tem sido observada em proteínas redox, no entanto, para a glicose oxidase (GOx) devido a seu cofator (FAD – flavina adenina dinucleotídeo) estar localizado a 15 Å da superfície enzimática<sup>3</sup>, essa transferência de elétrons é bastante limitada. Um dos métodos descritos na literatura para facilitar a obtenção da TDE é a modificação da estrutura proteica utilizando procedimentos de deglicosilação. Esses procedimentos clivam os glicanos presentes na estrutura proteica diminuindo a distância entre o centro ativo da enzima e a superfície do eletrodo<sup>2</sup>.

## Resultados e Discussão

Esse trabalho apresenta uma rota química de deglicosilação para a GOx, a qual utiliza o ácido trifluorometanosulfônico (TFMS) para a clivagem dos glicanos resultando em um núcleo de proteína intacto. Técnicas espectroscópicas foram utilizadas a fim de comparar as estruturas proteicas da GOx nativa e da GOx deglicosilada (dGOx) e sugeriram que a deglicosilação utilizando o TFMS não afetou de forma significativa a estrutura da enzima. Com o intuito de comparar a resposta eletroquímica da GOx e da dGOx, obtiveram-se os voltamogramas cíclicos dos bioeletrodos FFC-GOx-náfon e FFC-dGOx-náfon nas mesmas condições experimentais (figura 1). A fim de enfatizar esse resultado, a figura 1b mostra os voltamogramas cíclicos da figura 1a com a linha de base corrigida. Observou-se um aumento na corrente faradaica para a dGOx em relação à GOx nativa, confirmando que após a deglicosilação química obteve-se uma melhora na TDE entre o FAD presente na GOx e a superfície do eletrodo.

Para confirmar se a enzima continuou ativa após a deglicosilação, determinou-se a atividade enzimática da GOx e da dGOx. Este ensaio mostrou que a enzima continuou ativa após a reação com o TFMS, sendo que a GOx apresentou atividade específica igual a 0,0239 U/mg, enquanto que a dGOx apresentou atividade específica igual a 0,0237 U/mg.

38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química



**Figura 1.** (a) Voltamogramas cíclicos dos bioeletrodos FFC-GOx-náfon (linha preta) e FFC-dGOx-náfon (linha vermelha). Velocidade de varredura: 100 mVs<sup>-1</sup>. Eletrólito suporte: tampão fosfato de sódio 0,10 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,5). Temperatura: 25 °C; (b) voltamograma com a linha de base corrigida a partir do voltamograma cíclico apresentado em (a).

## Conclusões

De acordo com os resultados apresentados, o procedimento utilizando o TFMS se mostrou eficiente para a deglicosilação química da GOx, uma vez que não ocorreram alterações estruturais significativas e que as correntes faradaicas obtidas na voltametria cíclica foram maiores para a dGOx do que para a GOx. Ressalta-se o próximo passo do trabalho é provar que houve uma diminuição na massa molecular da enzima, o que permitiria concluir que a clivagem dos glicanos presentes na estrutura da enzima foi eficiente.

## Agradecimentos

FAPESP (Projetos nº 2013/14262-7, nº 2013/04663-4 e Processo nº 2013/19908-2), CNPq, INEO, NanoBioMedicine Network-Brasil (CAPES), IQSC-USP

<sup>1</sup> Liu, G.; Paddon-Row, M. N.; Gooding, J. J. *Electrochemistry Communications*, **2007**, *9*, 2218.

<sup>2</sup> Courjean, O.; Gao, F.; Mano, N. *Angewandte Chemie*, **2009**, *48*, 5897.

<sup>3</sup> Wohlfahrt, G.; Witt, S.; Hendle, J.; Schomburg, D.; Kalisz, H. M.; Hecht, H. -J. *Acta Cryst. D*. **1999**, *55*, 969.