

Imobilização da enzima TRX 1 em nanopartículas magnéticas

Caterina G. C. M. Netto (IC)^{1*}, Eduardo H. Nakamatsu (PG)², Marcelo Nakamura (TC)¹, Luis E. S. Netto (PQ)², Henrique E. Toma (PQ)¹

1- Laboratório de Nanotecnologia e Química Supramolecular – Instituto de Química- USP – Av prof. Lineu Prestes 742, Cidade Universitária, 05508-000, São Paulo * caterina@iq.usp.br

2- Laboratório de Oxidações Biológicas em Leveduras – Instituto de Biologia- USP- Rua do Matão 321, Cidade Universitária, 05508-900, São Paulo

Palavras Chave: Câncer,, imobilização, Tiorredoxina

Introdução

Tiorredoxinas (TRX) são enzimas celulares responsáveis por reduzir proteínas alvo que são reconhecidas por outros domínios do polipeptídeo.¹

Estudos mostram que a TRX humana está envolvida na ativação celular e proliferação, possuindo uma função antiapoptótica. Algumas drogas anticancerígenas são desenhadas para produzir apoptose pela geração de espécies de oxigênio reativas.

A superexpressão de TRX nas células cancerígenas está associada à promoção das células de câncer e ao desenvolvimento de resistência às drogas.²

Neste sentido, a TRX é um importante alvo para a terapia contra o câncer e inibidores da TRX são de extremo interesse.

Resultados e Discussão

Nanopartículas de magnetita foram sintetizadas pelo método da coprecipitação adicionando uma mistura 2:1 dos cloretos de Fe³⁺ e Fe²⁺ em NaOH. Visando a estabilização das nanopartículas, fez-se a silanização da superfície com aminopropil-trietróxi silano.

As partículas obtidas foram então submetidas à funcionalização de sua superfície com carboxibenzaldeído, para que se obtivesse uma superfície rica em grupamento carboxila.

A partir da ativação com EDC, pôde-se imobilizar 5mg de TRX 1 de leveduras por interação covalente.

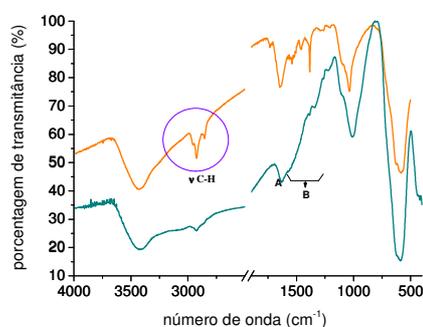


Figura 01. Espectroscopia de infravermelho das nanopartículas magnéticas antes (verde) e após (laranja) da imobilização da TRX 1.

A figura 01 mostra o espectro de infravermelho das nanopartículas antes e após a imobilização da TRX1

32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

e é possível ver um aumento de intensidade na região de estiramento C-H em 1290cm⁻¹ e a presença a banda de amida 1 em 1640cm⁻¹, indicando a presença de enzima na superfície da magnetita.

Fez-se diversos estudos de atividade catalítica da TRX1 e pôde-se notar que apesar da TRX estar ligada à um suporte não é possível reutilizá-la, pois esta perde a sua atividade completamente e além disso, inibe a atividade catalítica de TRX 1 livre em solução, como mostra a figura 02.

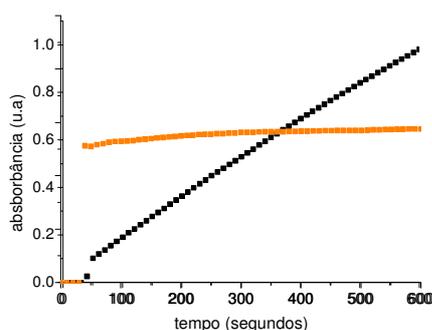


Figura 02. Gráfico de atividade enzimática da TRX 1 em função do tempo, com a TRX1 livre (preto) e com a TRX1 livre na presença da TRX1 imobilizada (laranja).

Conclusões

Neste trabalho foi possível imobilizar a TRX 1 de levedura na superfície da magnetita nanoparticulada por ligação covalente.

O novo bio-material mostrou-se eficiente na inibição de concentrações de até 65mmol de TRX 1 livre em solução, podendo ser um novo material para o controle de crescimento de células cancerígenas.

Agradecimentos

FAPESP, CNPq, IM²C

¹ L. E. S. O. Netto, M. A.; Monteiro, G.; Demasi, A.P. D.; Cussiol, J.R.R.; Discola, K.F.; Demasi, M.; Silva, G.M.; Alves, S.V.; Faria V.G.; Horta, B.B., *Comparative Biochemistry and Physiology : Part C* 2007, 146 180.

² Kaimul, A. M., Nakamura, H., Masutani, H., Yodoi, J., *Free Radical & Medicine*, 43, 2007, 861

