

## Modulação da atividade catalítica da $\alpha$ -quimotripsina utilizando polietilenoimina derivatizada - efeito da razão polímero:proteína.

Rafaela Stock<sup>1</sup> (IC), Marcelo Quint<sup>1</sup> (PG) Juan Ricardo<sup>1</sup> (PG)\*, José C. Gesser<sup>1</sup> (PQ). \*juan@qmc.ufsc.br

<sup>1</sup>Departamento de Química. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. Santa Catarina.

Palavras Chave: Quimotripsina, polietilenoimina, modulação, inibição, derivatização.

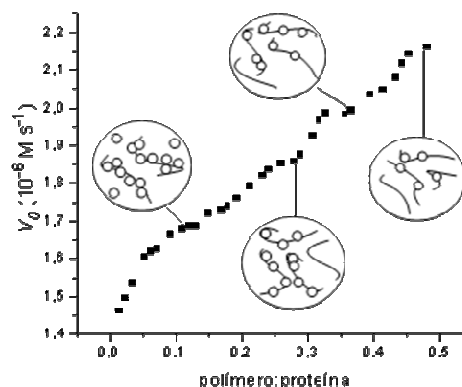
### Introdução

Interação de polímeros com proteínas pode causar mudanças na sua atividade catalítica. Um polímero muito versátil utilizado para esse fim é a polietilenoimina (PEI). Esta pode ser derivatizada com grupamentos que contenham diferentes cargas para interação com proteínas. Neste trabalho a PEI foi derivatizada combinatorialmente<sup>1</sup> com grupos contendo funções tanto positivas como negativas, obtendo-se assim, polímeros com diferentes cargas líquidas. Os resultados da interação desses polímeros com a quimotripsina foram analisados através de dados cinéticos e de fluorescência.

### Resultados e Discussão

Foi obtida uma biblioteca contendo 77 polímeros com diferentes combinações estequiométricas para dois derivatizantes diferentes, um com carga positiva e outro negativa. Do mapeamento cinético da reação de hidrólise de acetato de *p*-nitrofenila (pNPA) pelo sistema enzima-polímero (1:1) observou-se dois comportamentos distintos: hiperatividade para polímeros com cargas positivas, com velocidades entre  $3,5-7,0 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ , comparada à enzima, que foi de  $3,5 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ ; e processo de inibição, para polímeros com cargas positivas e negativas, com valores entre  $1,5-3,5 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ . Pela medida de fluorescência dos sistemas enzima-polímeros observou-se que as regiões com maior efeito inibitório sofreram uma supressão maior da fluorescência, 70.000 IF (375.000 IF para apenas enzima) e as constantes de Stern-Volmer também foram maiores para esses sistemas. Para a região onde houve hiperatividade a queda foi menor, para cerca de 100.000 IF e as constantes de Stern-Volmer<sup>2</sup> menores. Além disso,  $k_q$ , ficaram na faixa de  $10^{15} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  para ambas as regiões, indicando que o processo de interação não é controlado por difusão. Dois dos polímeros foram sintetizados em larga escala e isolados: A11, contendo cargas positivas, oriundo da região de hiperatividade; e E1 com cargas negativas oriundo da região de inibição. Foi estudada a razão polímero:proteína e observou-se pequenas saturações com o aumento de polímero até além de 1:1. Na Figura 1, são visualizados possíveis modelos de interação para cada região de saturação até a razão 0,5 dos

sistemas contendo A11 e quimotripsina, similar ao que acontece com E1.



**Figura 1.** Velocidade inicial para hidrólise de pNPA para diferentes razões polímero A11:proteína.

Foram obtidos parâmetros de Michaelis-Menten para cada região de saturação, na Tabela 1 são sumarizados alguns para A11 e E1.

**Tabela 1.** Parâmetros de Michaelis-Menten.

Polímero: proteína	$K_M(10^{-6}M)$	$k_{cat}(10^{-3}s^{-1})$	$k_{cat}/K_M(M^{-1}s^{-1})$
A11 (0,0)	4,7	1,8	387
A11 (0,4)	14,6	3,8	260
A11 (1,0)	5,14	5,2	1005
E1 (0,15)	12,1	2,7	227
E1 (0,5)	12,7	3,1	248
E1 (1,0)	15,3	4,0	262

O efeito da interação provoca diferentes mudanças na atividade catalítica da enzima, tanto na etapa de abstração do substrato como para a de catálise e consequentemente na sua especificidade.

### Conclusões

A interação dos polímeros com a proteína provoca mudanças na sua catálise como observado pelos parâmetros de Michaelis-Menten.

### Agradecimentos

UFSC, CAPES, CNPq e LACBIO.

<sup>1</sup> Hollfelder, F.; Kirby, A. e Tawfik, D. J. *Org. Chem.* **2001**, *66*, 5866.

<sup>2</sup> Boeris, V; Farruggia, B; Nerli, B; Romanini, D. e Picó, G. *Int.J. Biol. Macromol.* **2007**, *41*, 286.