

CARACTERIZAÇÃO DAS PROTEASES DE *Panagrolaimus* sp. LINHAGEM CEW2. Characterization of protease from *Panagrolaimus* sp. lineage CEW2. COELHO, C.C.; WINTER C. E. Programa de Pós-Graduação em Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro Laboratório de Biologia Molecular de Nematoides. Instituto de Ciências Biomédicas. Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. E-mail: camilac.coelho1@gmail.com Apoio: CAPES/CNPQ.

Nematoides de vida livre do gênero *Panagrolaimus* se caracterizam por apresentar hábitos extremófilos, sobrevivendo a condições de baixa temperatura e baixa umidade relativa. A linhagem dioica que utilizamos em nossos estudos (*Panagrolaimus* sp. CEW2) foi isolada em Rondônia e tem se mostrado resistente a dessecação, congelamento e alta força iônica/pressão osmótica. Proteases têm sido estudadas do ponto de vista bioquímico principalmente em nematoides parasitas. Apesar de 2% dos genes de *C. colocar* o gênero *elegans* serem anotados como proteases pouco se sabem sobre suas proteases digestivas. Ensaio de purificação de proteínas do vitelo de *Panagrolaimus* sp. CEW2 sugeriram que esses nematoides possuem proteases mais ativas do que os rhabditídeos *C. elegans* e *Oscheius tipulae*. Os nematoides foram mantidos a 22 °C em placas de Petri contendo meio NGM e *E. coli* linhagem NA22. Os ensaios de atividade foram realizados utilizando substratos sintéticos para tripsina, quimotripsina, aminopeptidase, elastase, catepsina B e D. (BAAPNA, SUPHEPA e Suc-Leu-pNA, N-Suc-Ala-Ala-Pro-Leu-pNA, Suc-Ala-Ala-Ala-pNA, Suc-Ala-Ala-Val-Ala-pNA, N-Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-pNa, Cloreto de Z-Phe-Arg-MCA, Cloreto de Z-Arg-Arg-MCD). Desenvolveu-se um método de crescimento em massa de *Panagrolaimus* sp. CEW2 utilizando meio S (Brenner, Genetics 77:71-94, 1974), *E. coli* linhagem NA22 e um substrato sólido feito com esponja de poliuretano. Este método aumentou em 10x a quantidade de nematoides obtidos quando comparados ao crescimento em placa de Petri com meio NGM. Utilizando substratos sintéticos específicos para Leucina-Aminopeptidase, Elastase, Catepsina B e D, pode-se detectar atividades dessas enzimas presentes no extrato total destes vermes. As velocidades das reações se mostraram-se lineares por 2h. A partir disso caracterizou-se a temperatura e pH ótimos para o ensaio dessas atividades enzimáticas.

Palavras Chaves: *Panagrolaimus*, nematoide, protease, extremófilo.