

212

DETERMINAÇÃO CINÉTICA DE REAÇÃO DA ENZIMA PEROXIDASE E SUA MODULAÇÃO COM ANTICORPOS ANTI-ENZIMA: IMPLICAÇÕES NO DESENVOLVIMENTO DE ANTICORPOS BI-ESPECÍFICOS.

Roberta G. Bortolini, Aline C. Baldi, Tomoe D. Hamanaka, Mara L. R. Simões, Sérgio L. Z. Pinto, Fernando T. Kreutz, Eloy J. Garcia* (Departamento de Biofísica, Instituto de Biociências, UFRGS, * Faculdade de Farmácia, ULBRA).

Enzimo-imuno-ensaios utilizam enzimas como a peroxidase para identificar a reação antígeno-anticorpo. A peroxidase reage com o cromógeno ABTS (2,2-Diazino do ácido-etilbenzotiazolino sulfônico) em presença de peróxido de hidrogênio, gerando uma reação colorimétrica proporcional a quantidade do complexo antígeno-anticorpo presente. Convencionalmente, a enzima peroxidase é quimicamente conjugada ao anticorpo. Durante este processo, tanto a enzima quanto o anticorpo podem ser inativados. Anticorpos bi-específicos (AcBs), por outro lado, incorporam dois paratopos (sítios de ligação) diferentes numa mesma molécula eliminando a necessidade de conjugação química. AcBs têm sido utilizados como imuno-reagentes, apresentando características superiores em termos de cinética de reação e sensibilidade quando comparados aos imuno-reagentes quimicamente conjugados. A ligação do anticorpo com a enzima pode alterar a função enzimática por impedimento estérico ou pela modificação molecular sítio ativo da peroxidase. Vários anticorpos anti-peroxidase foram desenvolvidos anteriormente em nosso laboratório. Este estudo visa avaliar o efeito da ligação destes anticorpos com a peroxidase no que se refere a cinética de transformação do substrato ABTS. A partir destes resultados, foi possível selecionar um anticorpo anti-peroxidase para a produção de anticorpos bi-específicos. (Apoios: Bolsa: PROPESQ/UFRGS; Financeiro: Projeto Radio-análise, Dep. de Biofísica e FK-Biotec).