

Identificação e caracterização de proteínas ligadoras de heparina dos tecidos de *Rhipicephalus microplus* e *Fasciola hepatica*

da Silveira, L.M.^{1,2,3}; Termignoni C.^{1,3}

¹Centro de Biotecnologia, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil; ²Faculdade de Medicina Veterinária, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil; ³Departamento de Bioquímica, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil



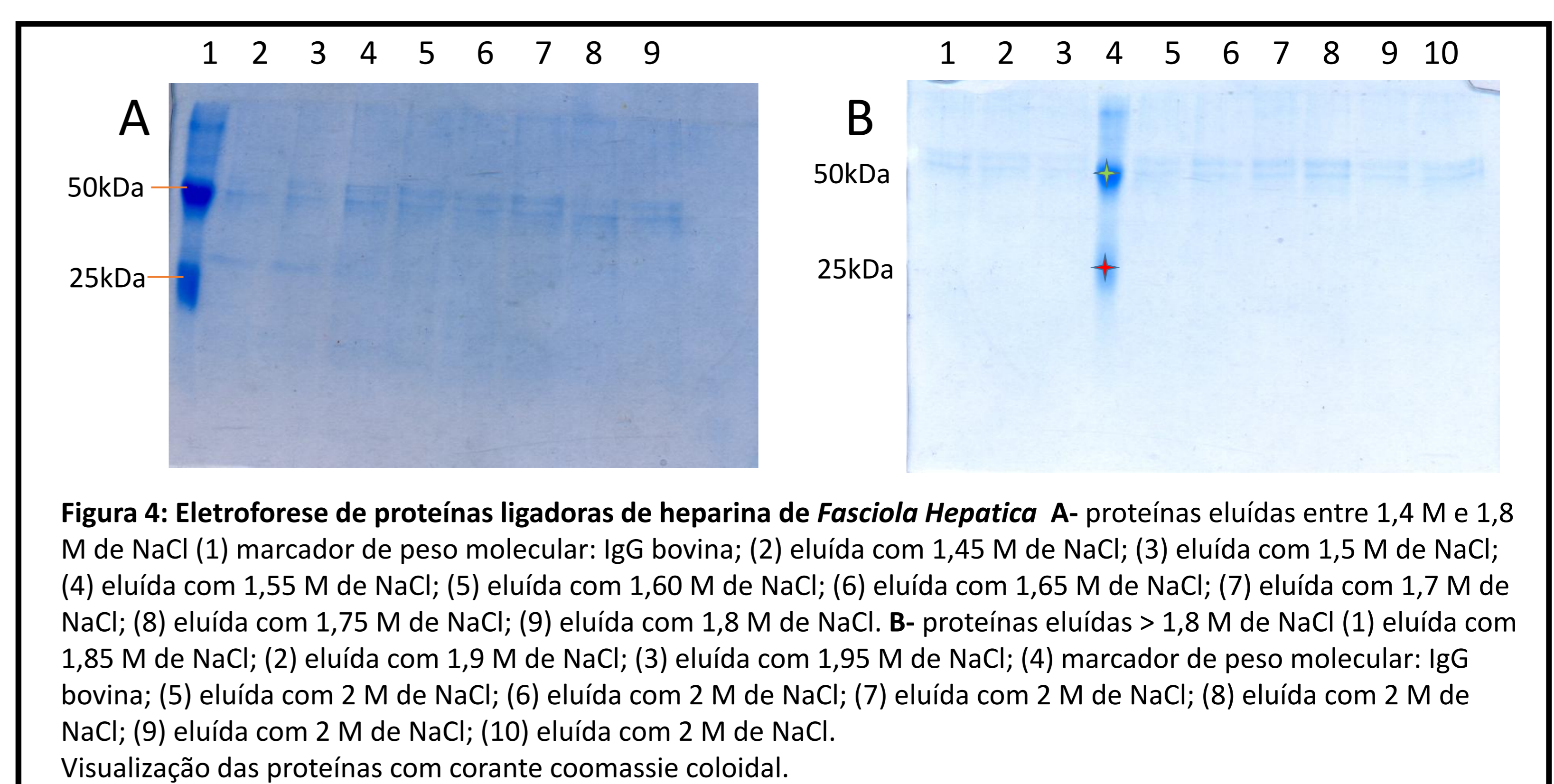
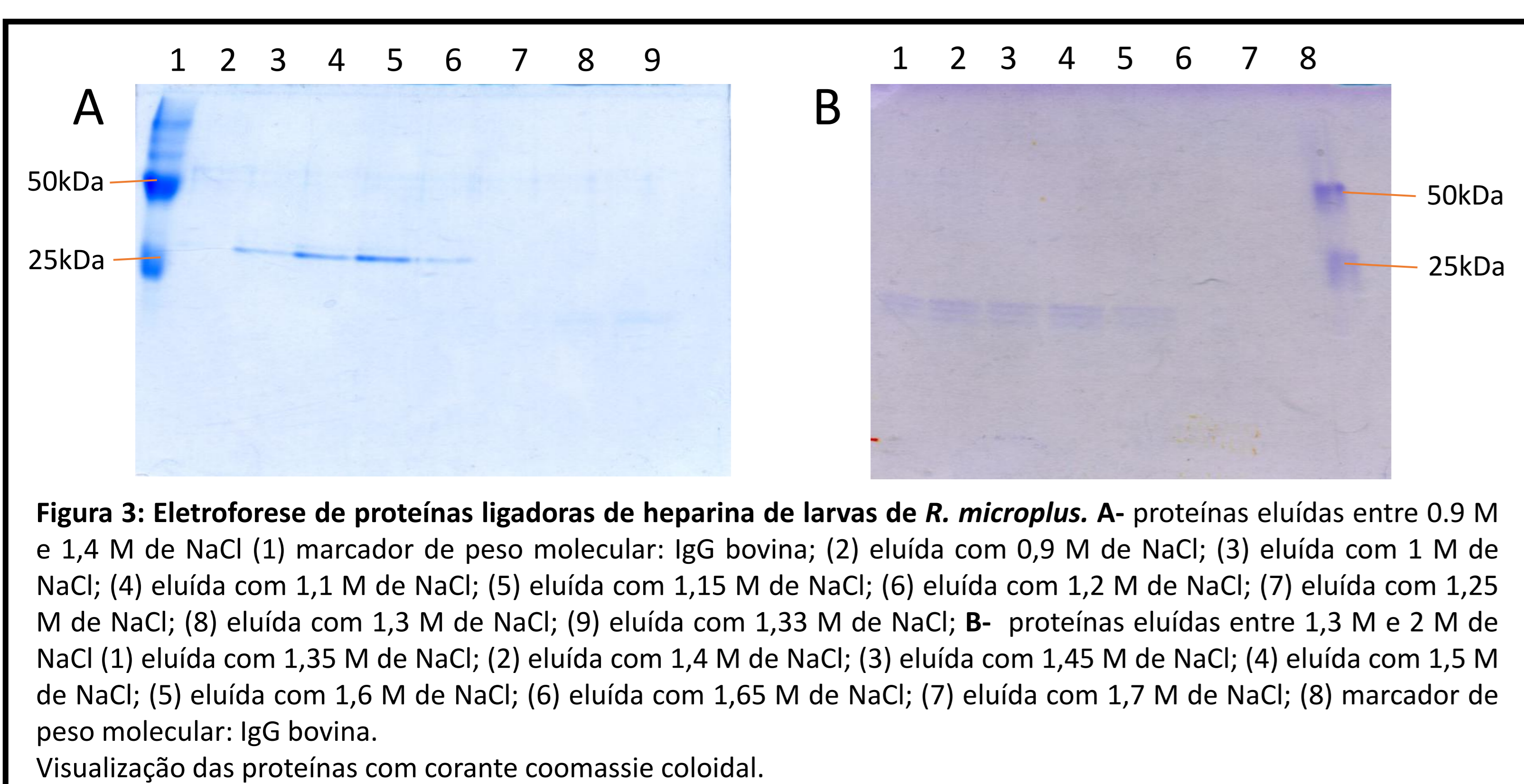
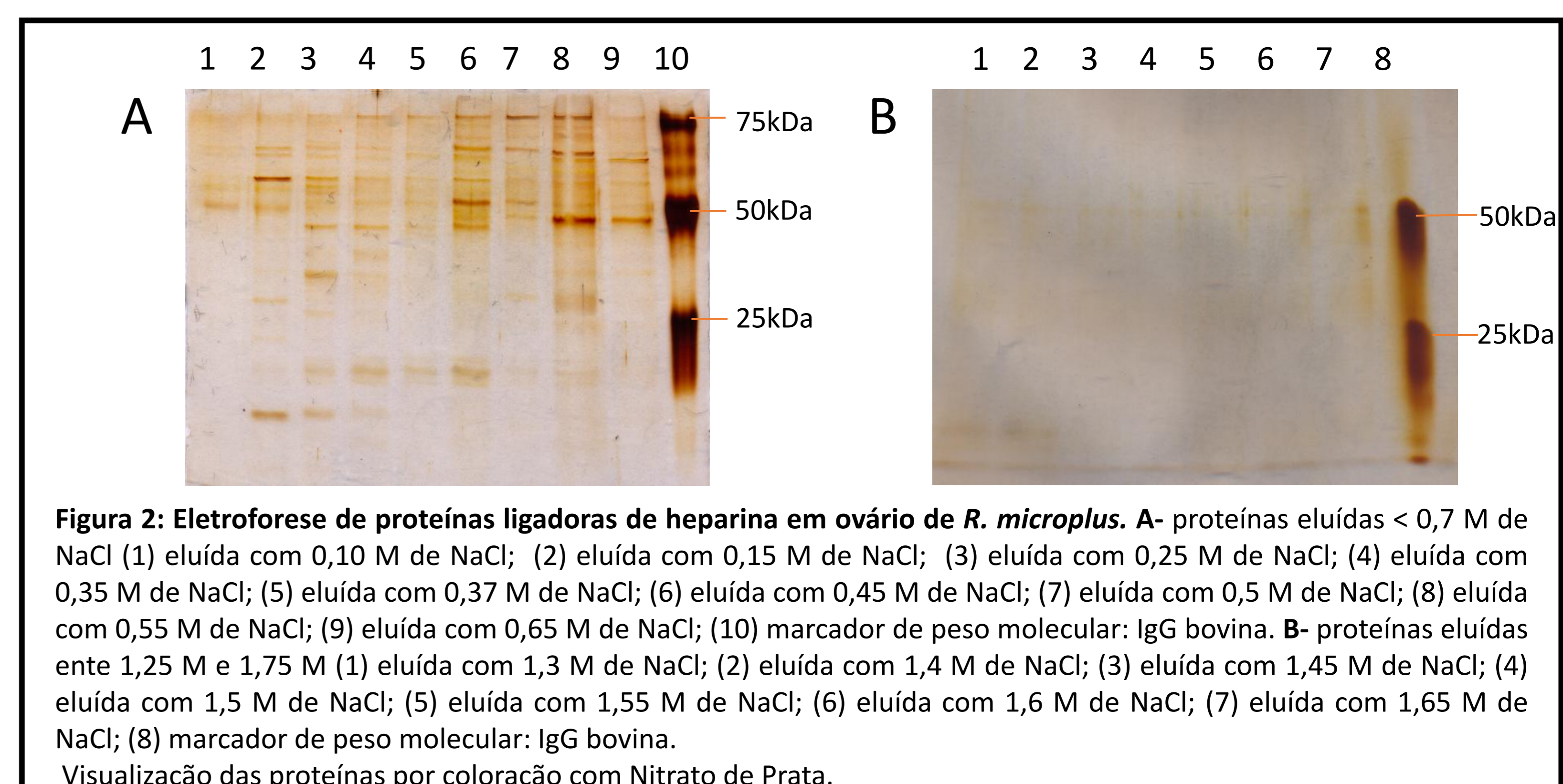
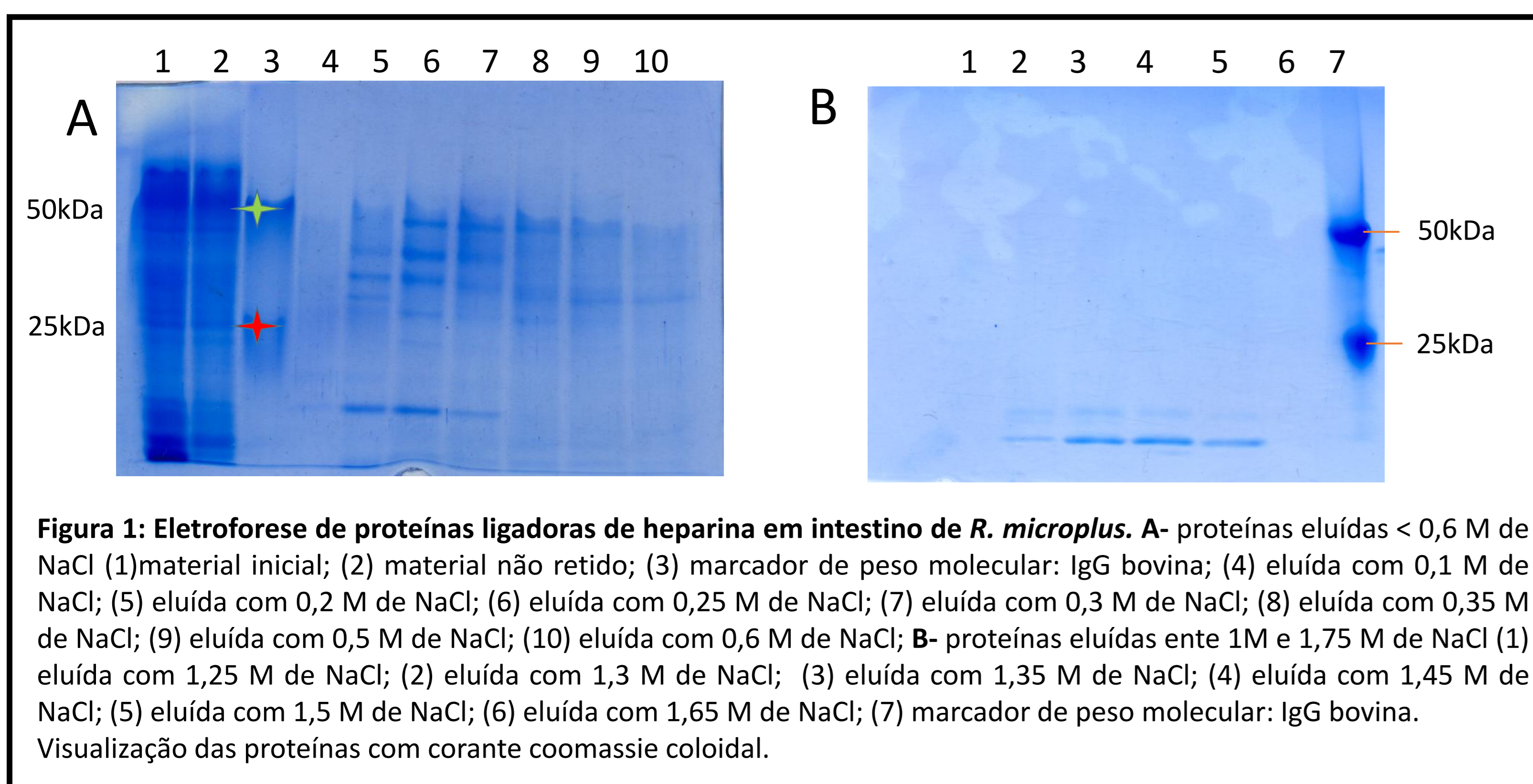
INTRODUÇÃO

A heparina é um glicosaminoglicano sulfatado, que tem a habilidade de ligar-se com diversas proteínas, devido aos seus variados sítios de ligação. Dentre as diversas proteínas ligadoras de heparina encontramos fatores e inibidores da coagulação sanguínea. A heparina é altamente utilizada por patógenos na interação com células do hospedeiro. O objetivo do presente trabalho foi (i) identificar o perfil de proteínas ligadoras de heparina presentes nos tecidos de dois parasitos hematófagos: o carrapato *Rhipicephalus microplus* e o helminto *Fasciola hepatica*; (ii) identificar proteínas que possam comprometer a viabilidade do parasito.

MATERIAIS E MÉTODOS

Extratos proteicos do carrapato *Rhipicephalus microplus* foram obtidos a partir da dissecação de ovário, glândula salivar e intestino de fêmeas parcialmente ingurgitadas e larvas. Exemplos de *Fasciola hepatica* foram colocadas em meio de cultivo RPMI 1640 para que o conteúdo do intestino fosse excretado. Cada um dos extratos foi macerado, centrifugado para remoção de detritos e separado por cromatografia de afinidade em resina com heparina imobilizada (HiTrap™ Heparin HP, GE Healthcare), usando tampão fosfato de sódio 10 mM, pH 7,4 acrescido de NaCl (gradiente 0 a 2 M) para eluição das proteínas retidas na resina. As frações obtidas a partir das cromatografias foram ainda separadas por SDS-PAGE 12%, e os géis foram corados com Coomassie blue ou nitrato de prata para visualização das proteínas.

RESULTADOS



CONCLUSÃO

Foram observadas diversas proteínas que se ligam com baixa afinidade a heparina nos tecidos de fêmeas de *R. microplus* parcialmente alimentadas: intestino, ovário e larvas. Nos tecidos de larva e intestino podemos observar também de duas a três proteínas que foram eluídas durante a cromatografia com mais de 1 M de NaCl. Em ovário, observamos com molaridade acima de 1 M de NaCl somente uma proteína com uma baixa concentração. Não foram observadas proteínas ligadoras de heparina em tecidos de glândula salivar de fêmeas parcialmente alimentadas de *R. microplus*. Nos tecidos de *Fasciola hepatica* foram visualizadas muitas proteínas que demonstraram alta afinidade à heparina, inclusive proteínas que só eluíram ao alcançar 2 M de NaCl. Análises de espectrometria de massas serão realizadas para identificar as proteínas encontradas.