



**Universidade:
presente!**

UFRGS
PROPEAQ

XXXI SIC

Salão UFRGS 2019
CONHECIMENTO FORMACÃO INOVAÇÃO

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

Evento	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2019
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Otimização das condições de manuseio e armazenamento de isolados de vesículas extracelulares a partir do sangue
Autor	DESSANDER GARCIA FACCIN
Orientador	TIAGO DEGANI VEIT

Otimização das condições de manuseio e armazenamento de isolados de vesículas extracelulares a partir do sangue.

Autor: Dessander Garcia Faccin
Orientador: Tiago Degani Veit
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

INTRODUÇÃO: Vesículas extracelulares (VEs) são pequenas estruturas compostas por bicamadas lipídicas, com diâmetro que varia entre 30 e 1000 nanômetros, secretadas por numerosos tipos de células. Dentre os tipos de vesículas extracelulares existentes, os exossomos destacam-se por ser potenciais fontes de biomarcadores proteicos e de ácidos nucleicos (RNAs) para diversos tipos de condições fisiológicas e patológicas, como cânceres, doenças autoimunes e neurodegenerativas, entre outras. VEs do plasma sanguíneo são de difícil obtenção por diversos fatores, o que inclui seu pequeno tamanho, densidade semelhante a partículas de colesterol HDL e contaminação com outros tipos de partículas sanguíneas com diâmetro próximo, tais como quilomicrons e VLDL. Além das questões relativas à sua obtenção, a qualidade da pesquisa de biomarcadores nessas estruturas pode ser grandemente impactada pelas condições de manuseio e armazenamento desses isolados.

OBJETIVO: Avaliar diferentes condições de armazenamento, tratamento e manuseio de isolados de VEs obtidas a partir de plasma humano.

METODOLOGIA: Isolados de VEs foram obtidos a partir do plasma humano por um protocolo combinado, envolvendo ultracentrifugação com gradiente de densidade (UC-GD) seguida de cromatografia de exclusão de tamanho (CET), ou por um protocolo de um único passo usando-se CET, e aplicadas a diferentes condições de manuseio/armazenamento. Um mL de plasma ou do *pellet* coletado após a UC-DG foram eluídos em uma coluna de 10 mL de Sepharose CL-2B usando-se PBS como eluente e 15 frações de 0,5 mL foram coletadas. Em um experimento, as frações enriquecidas em VEs (7 a 10) foram divididas em duas alíquotas, uma estocada em um tubo Eppendorf comum e outra em tubo Eppendorf LoBind. Em outro experimento, avaliou-se o efeito da filtração em filtro de 0,22 μm na concentração final das frações isoladas. As comparações entre os diferentes métodos de manuseio e estocagem foram realizadas por análise de rastreamento de nanopartículas (NTA) e dosagem de proteínas totais por microBCA.

RESULTADOS: Foi observada, até o momento, uma grande diferença na concentração de partículas entre os isolados armazenados em eppendorfs normais e eppendorfs Lobind, com o segundo tipo de tubo apresentando concentrações 2,13 e 2,31 maiores, em média, para frações obtidas por CET e pelo protocolo combinado, respectivamente. A passagem dos isolados por filtro de 0,22 μm não impactou significativamente na concentração e tamanho médio das partículas conforme analisado por NTA. Os nossos dados sugerem que os tubos LoBind, com baixa ligação de proteínas, se fazem necessários para o armazenamento de isolados de VEs com baixa concentração de proteína, tais como os obtidos pelas técnicas empregadas pelo nosso grupo. Os próximos passos do estudo envolverão a avaliação da estabilidade das vesículas após ciclos de congelamento/descongelamento e das diferentes variáveis qualitativas associadas ao tratamento das amostras após o descongelamento das mesmas.