

Determinação da natureza glicoproteica da Lectina de *Mikania laevigata* (guaco) e estudo de sua ligação a leucócitos de sangue periférico de ratos.

João Roberto Fernandes, Anderson Rech, Letícia Ferreira Pettenuzzo, Vera Treis Trindade, Magdolna Maria Vozári Hampe

Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde - UFRGS



INTRODUÇÃO

Lectinas constituem um grupo especial de (glico) proteínas capazes de ligar com especificidade carboidratos, sem os modificar. Elas estão amplamente distribuídas na natureza desde micro-organismos, plantas até animais superiores. Devido à interação proteína-carboidrato, as lectinas têm sido usadas no estudo de fenômenos biológicos e no esclarecimento de alterações na constituição dos glicoconjugados da superfície de células em situações fisiológicas normais e patológicas.

OBJETIVO

Os objetivos deste trabalho foram: 1 - determinar a natureza glicoproteica da lectina isolada de folhas de *Mikania laevigata* (MLL) ligante de glicose, manose e de seus derivados, com fins de sua caracterização estrutural; 2 - o possível uso da lectina como marcadora de leucócitos de sangue periférico de ratos para posterior estudo em exercício físico.

MATERIAIS E MÉTODOS

I - Extração e purificação da Fração Lectínica de *Mikania laevigata*

EXTRAÇÃO DE FOLHAS FRESCAS EM PBS, pH 7.2

APLICAÇÃO EM COLUNA CROMATOGRÁFICA SEPHADEX G-50

ELUIÇÃO COM SOLUÇÃO DE D-GLICOSE 0.2M EM PBS

CROMATOGRAFIA DE TROCA IÔNICA EM COLUNA DE MONOQ

II - Avaliação quantitativa de Glicídios Neutros de Lectinas foi realizada pelo método de DUBOIS (1956) e de Proteínas pelo método de LOWRY (1951)

III - Marcação das Lectinas com FITC pelo método de GODIN (1976)

IV - Obtenção dos Leucócitos de sangue de ratos, em tubos com anticoagulante EDTA

V - Preparação das amostras para leitura no Citômetro

FIXAÇÃO DO SANGUE COM FORMALDEIDO

LISE DOS ERITRÓCITOS EM SOLUÇÃO FOSTATO E TRITON X100

DIVISÃO DO SANGUE EM DOIS GRUPOS PARA INCUBAÇÃO

N = 4
SANGUE + LECTINA

N = 4
SANGUE + LEC. + INIBIDOR

LEITURA NO CITÔMETRO

RESULTADOS

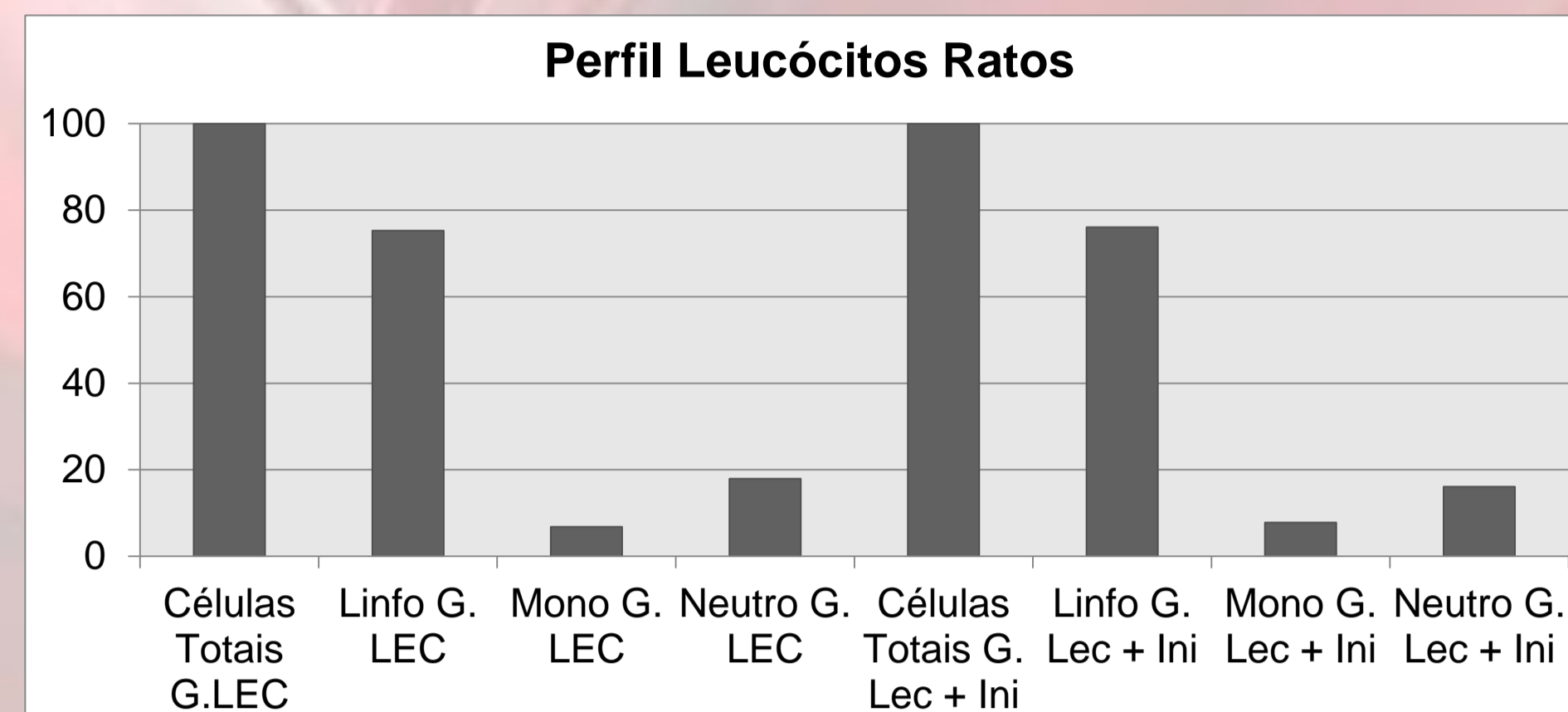


Fig 1 -Perfil Leucocitário de ratos do Grupo Lectina e Grupo Lectina + Inibidor.

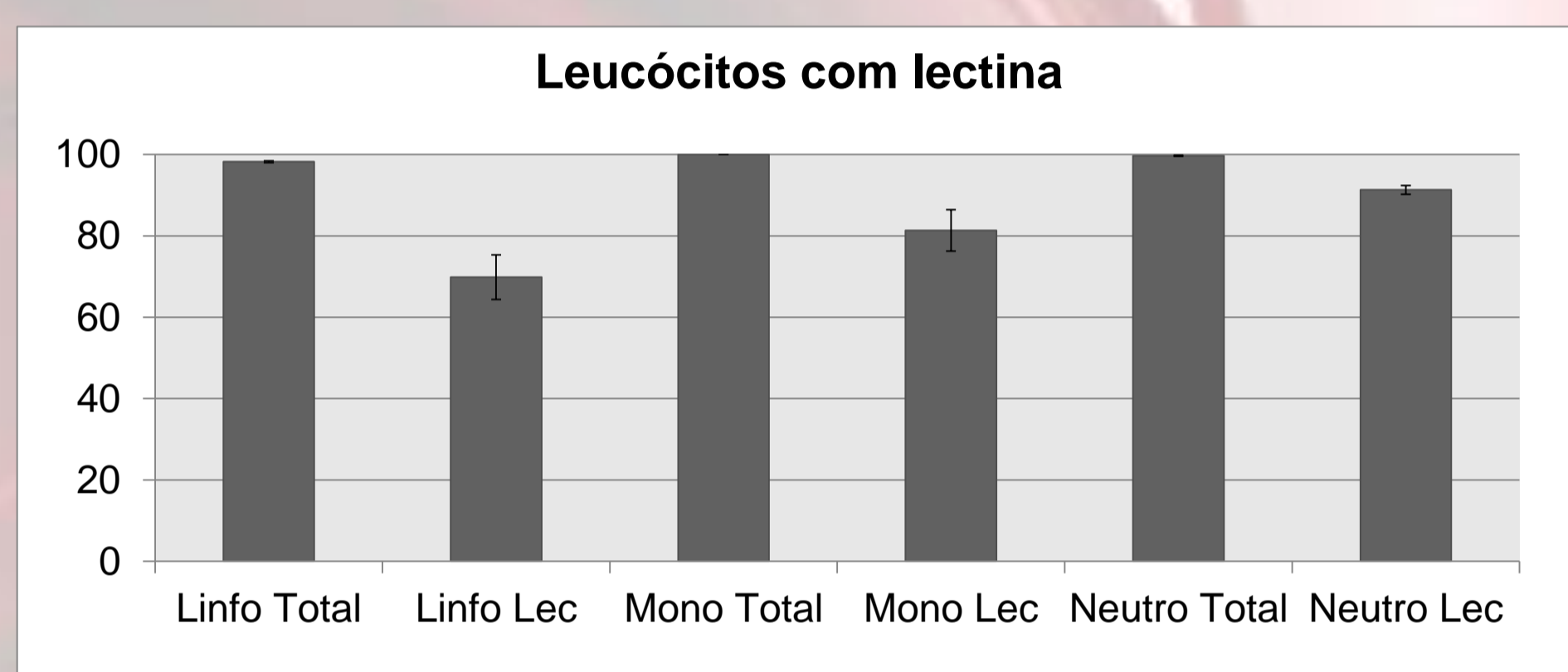


Fig 2 -Leucócitos de Ratos do Grupo lectina e seu percentual de células ligadas com Lectinas

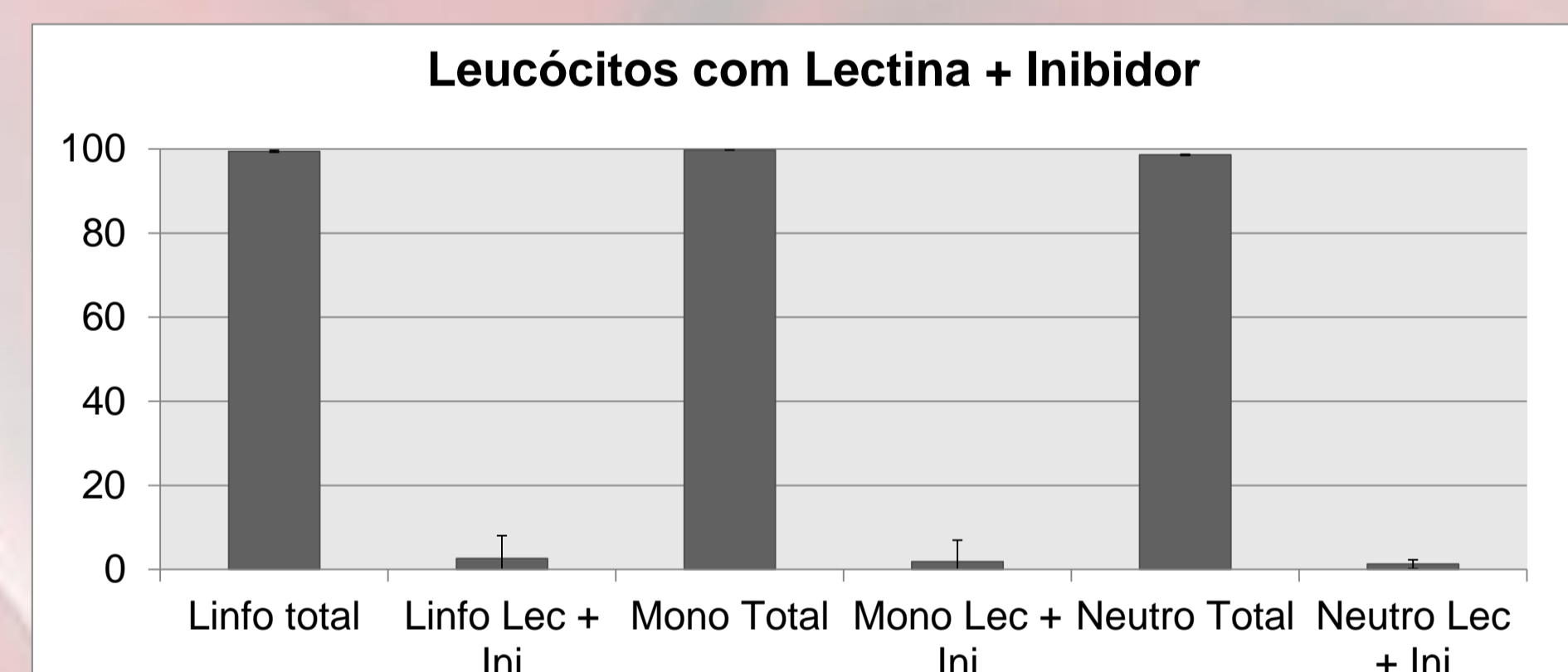


Fig 3 -Leucócitos de Ratos do Grupo Lectina + Inibidor e seu percentual de células ligadas com Lectinas

DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

MLL é uma glicoproteína contendo 4% de glicídios neutros com potencial para ser utilizada no estudo de possíveis alterações de glicoconjugados de superfície presentes em leucócitos de sangue periférico de ratos, preferencialmente de monócitos e neutrófilos, em situações fisiológicas normais e patológicas.

REFERÊNCIAS

- 1.DUBOIS, M., GILES, K.A., HAMILTON, J.K., REBERS, P.A., SMITH, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28, 350-356.
- 2.GODING, J. W. Conjugation of antibodies with fluorochromes: modifications to the standard methods. Journal of immunological methods, v. 13, n. 3-4, p. 215-26.
- 3.LOWRY LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. The Journal of biological chemistry, v. 193, n. 1, p. 265-75.

Apoio financeiro: PROPESQ/UFRGS

rfernandes.joao@gmail.com