

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}

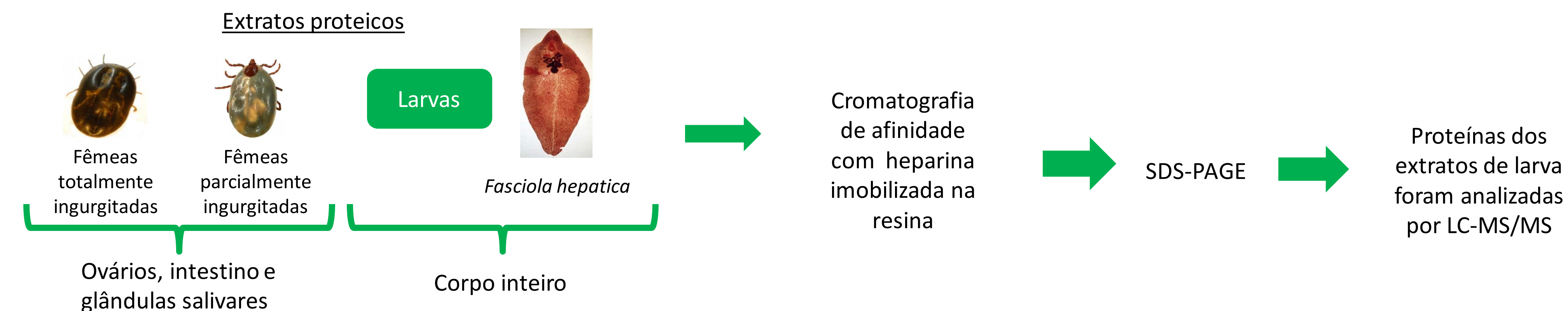
¹Centro de Biotecnologia, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil; ²Faculdade de Medicina Veterinária, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil;

³Departamento de Bioquímica, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil

INTRODUÇÃO

A heparina é um glicosaminoglicano sulfatado presente na maioria das células animais e tem a capacidade de se ligar a diversas proteínas devido aos seus múltiplos sítios ativos. Patógenos podem utilizar a heparina para interagir com as células do hospedeiro. O carrapato *Rhipicephalus microplus* e o helminto *Fasciola hepatica* são parasitas hematófagos que causam perdas econômicas na bovinocultura. O objetivo deste trabalho foi caracterizar o perfil de proteínas ligadoras de heparina presentes nos tecidos de *R. microplus* e *F. hepatica* e posteriormente identificar proteínas com alta afinidade por heparina.

MATERIAIS E MÉTODOS



RESULTADOS

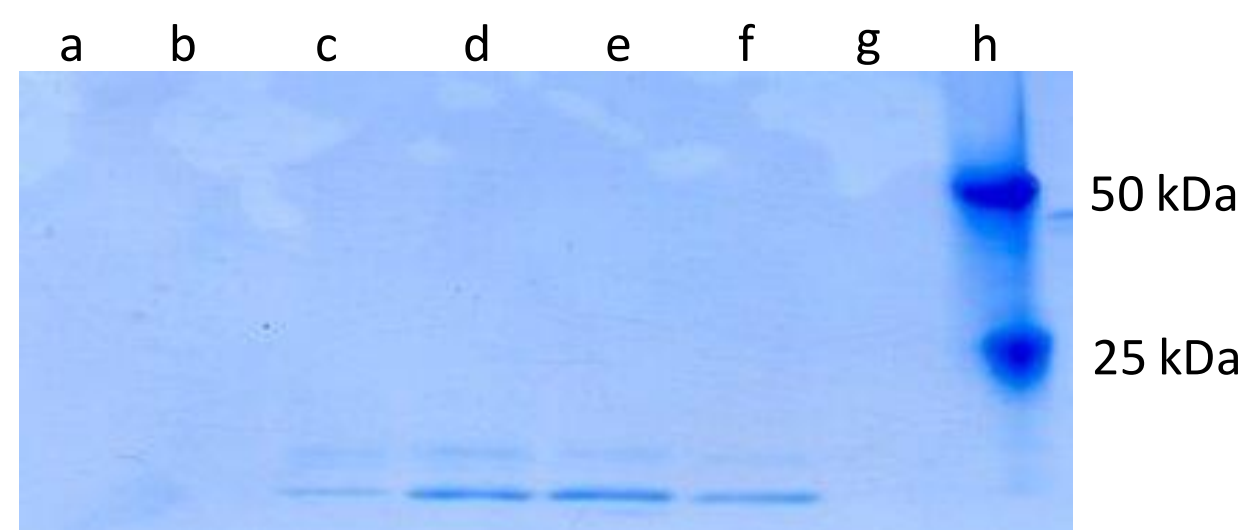


Figura 1: SDS-PAGE de proteínas ligadoras de heparina de intestinos de fêmeas de *R. microplus* parcialmente ingurgitadas; Marcador de peso molecular, IgG bovina (h); Frações da cromatografia que eluíram entre 1,2 M e 1,7 M de NaCl (a,b,c,d,e,f,g).



Figura 2: SDS-PAGE de proteínas ligadoras de heparina de ovário de fêmeas de *R. microplus* parcialmente ingurgitadas; Marcador de peso molecular, IgG bovina (h); Frações da cromatografia que eluíram entre 1,2 M e 1,7 M de NaCl (a,b,c,d,e,f,g).



Figura 3: SDS-PAGE de proteínas ligadoras de heparina de glândula salivar de fêmeas de *R. microplus* totalmente ingurgitadas; Marcador de peso molecular, IgG bovina (j); Frações da cromatografia que eluíram entre 1,2 M e 1,6 M de NaCl (a,b,c,d,e,f,g,h,i).

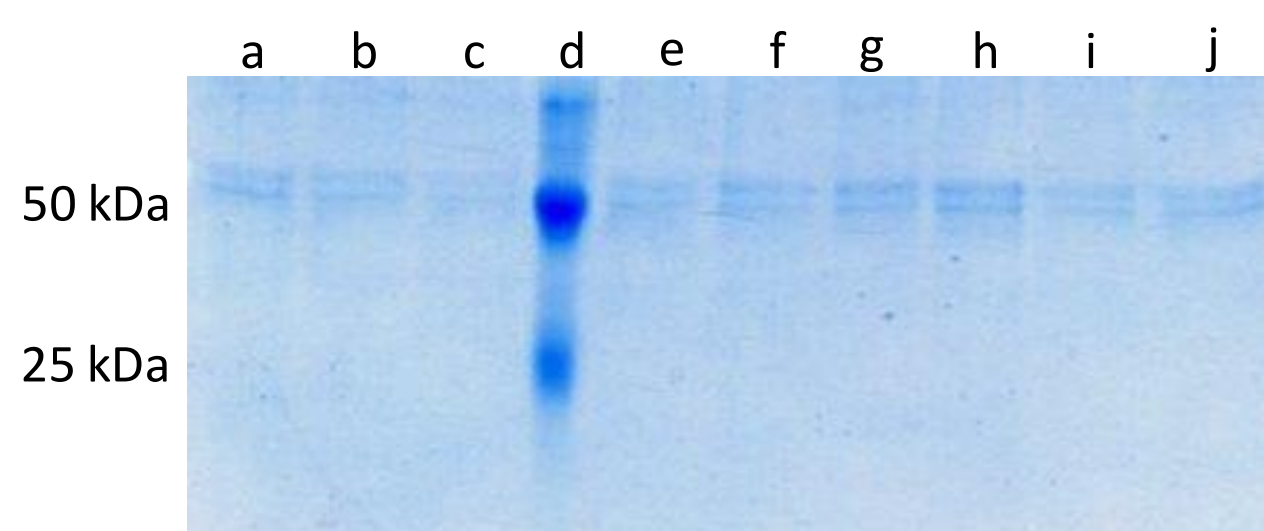


Figura 4: SDS-PAGE de proteínas ligadoras de heparina de *F. hepatica*; Marcador de peso molecular, IgG bovina (d); Frações da cromatografia que eluíram acima de 1,5 M de NaCl (a,b,c,e,f,g,h,i,j).

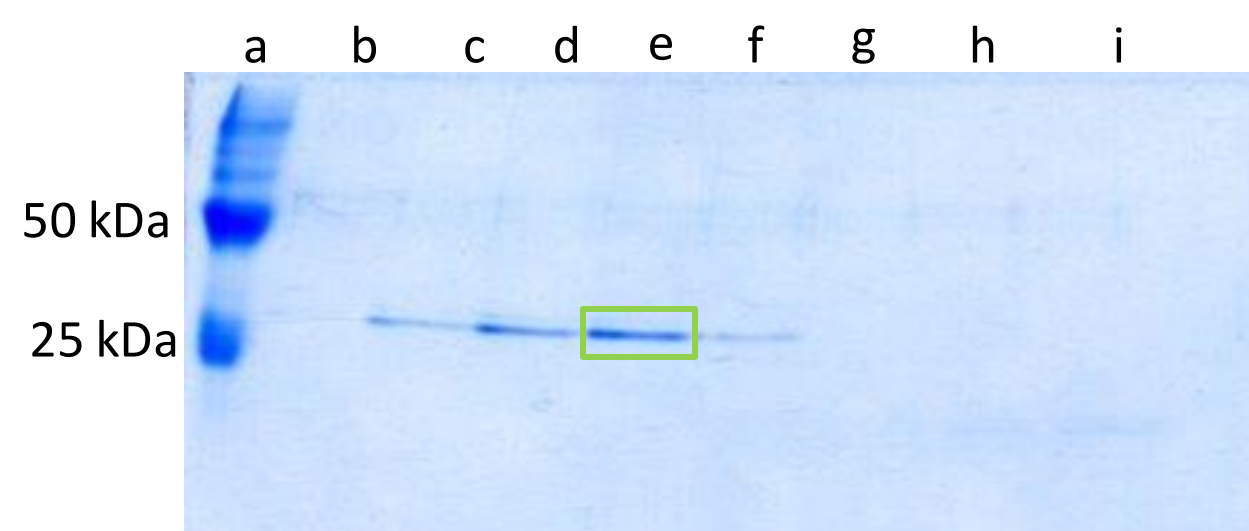


Figura 5: SDS-PAGE de proteínas ligadoras de heparina de larvas de *R. microplus*; Marcador de peso molecular, IgG bovina (a); Frações da cromatografia que eluíram entre 1 M e 1,5 M de NaCl (b,c,d,e,f,g,h,i).

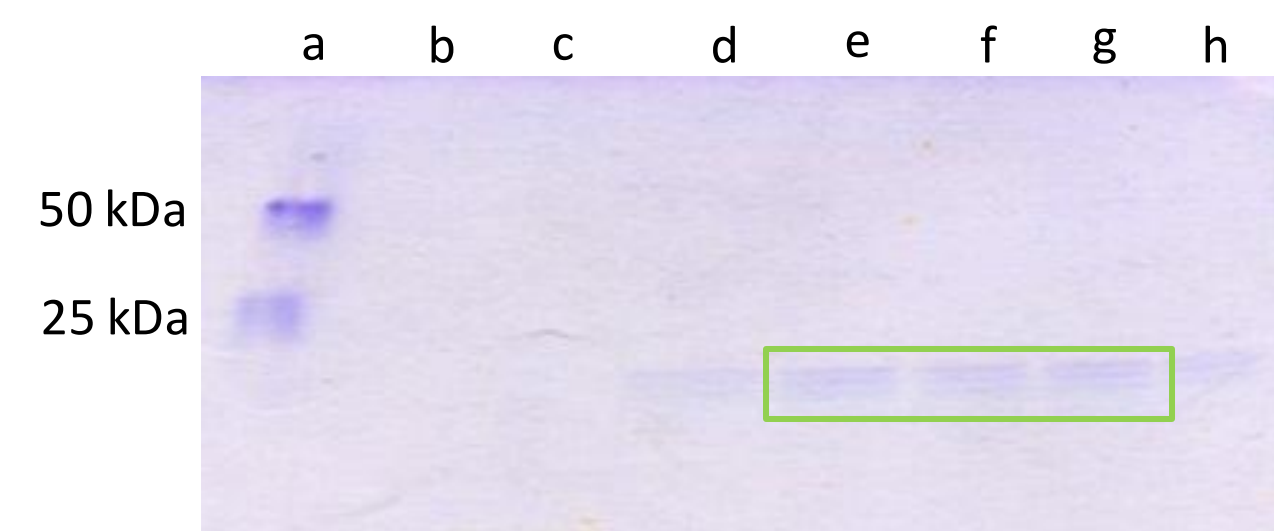


Figura 6: SDS-PAGE de proteínas ligadoras de heparina de larvas de *R. microplus*; Marcador de peso molecular, IgG bovina (a); Frações da cromatografia que eluíram acima de 1,5 M de NaCl (b,c,d,e,f,g,h).

As análises de SDS-PAGE das amostras de intestino e ovário de fêmeas totalmente ingurgitadas de *R. microplus* não estão aqui apresentadas, pois as amostras da cromatografia apresentaram baixa afinidade por heparina (eluíram com < 0,8 M de NaCl). Assim como as amostras de glândula salivar de fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. microplus* não apresentaram uma quantidade considerável de proteínas ligadoras de heparina.

As análises de LC-MS/MS foram realizadas utilizando um banco de dados do carrapato *R. microplus* e identificaram a proteína presente na imagem 5, linha e (sinalizada pelo retângulo verde) como uma Histona 1. E como Histonas 2A e 2B o mix de amostras da imagem 6, das linhas e até g, também sinalizadas por um retângulo verde.

CONCLUSÃO

Proteínas ligadoras de heparina encontram-se nos tecidos de *Rhipicephalus microplus* e *Fasciola hepatica*. Testes enzimáticos devem ser feitos com as proteínas identificadas nos tecidos de larva para caracterizar seu perfil de atividade. É esperado, devido a estudos anteriores, que as histonas na presença de heparina bloqueiem a atividade da mesma, assim como de outros anticoagulantes, porém quando isoladas com plasma sanguíneo pobre em plaquetas apresentem um perfil anticoagulante, especialmente a histona tipo 1.