



Evento	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2015
Local	Porto Alegre - RS
Título	CORRELAÇÃO DE METODOLOGIAS DE QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS EM LEUCÓCITOS NO DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS LISSÔMICAS DE DEPÓSITO
Autor	EDUARDA TASSONI KÄFER
Orientador	JANICE CARNEIRO COELHO

**CORRELAÇÃO DE METODOLOGIAS DE
QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS EM LEUCÓCITOS
NO DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS LISSOSSÔMICAS DE DEPÓSITO**

Eduarda Kafer; Janice Carneiro.

Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo - Doenças Lisossômicas de Depósito (LEIM-DLD), Laboratório 25- Departamento de Bioquímica do ICBS- UFRGS.

A quantificação de proteínas é utilizada para expressar a atividade enzimática no diagnóstico de doenças lisossômicas de depósito em amostras de leucócitos. Essas doenças são erros inatos do metabolismo caracterizados bioquimicamente por deficiência enzimática. O objetivo desse trabalho foi correlacionar três diferentes métodos de dosagem de proteínas para posterior utilização na expressão de atividades enzimáticas em amostras de leucócitos. **Materiais e métodos:** Foram obtidos 10 mL de sangue com anticoagulante heparina de 34 indivíduos. Os leucócitos foram separados das amostras segundo a técnica de Skoog e Beck (1956), diluídos em água destilada e sonificados para a lise das membranas celulares. Foram realizadas dosagens das proteínas presentes nas amostras em três técnicas colorimétricas em placas de 96 poços: 1) técnica descrita por Lowry *et al.* (1951), que utiliza reagente cúprico e reagente de Folin, 2) técnica descrita por Bradford *et al.* (1976), que utiliza Coomassie Plus™ e 3) técnica de Pierce™-BCA (Smith *et al.*, 1985), que utiliza ácido biocrômico. O resultado das três técnicas foi correlacionado utilizando-se teste de Correlação de Pearson considerando $p < 0,05$, e analisados com auxílio do programa GraphPad Prism versão 5.03. **Resultados:** As técnicas de Bradford e Lowry utilizam 10uL de amostra de leucócito e a BCA 25uL. Lowry necessita de 40 minutos de incubação, Bradford de 10 min e BCA de 30min quando realizadas em placas de 96 poços. Os resultados das análises de correlação de Pearson foram: Lowry x Bradford $r=0,7289$, Lowry x BCA $r=0,8532$ e Bradford x BCA $r=0,8223$, sendo $p < 0,001$ para as três correlações. **Conclusão:** A quantificação de proteínas totais é necessária para a correção da atividade enzimática pelo tempo de incubação com o substrato da reação e o volume de amostra nas técnicas de diagnóstico de doenças lisossômicas de depósito. O resultado das três correlações foi significamente positivo, demonstrando que os três métodos podem ser utilizados na expressão das atividades enzimáticas. Devido à facilidade do método de Bradford, que utiliza apenas um reagente, bem como a menor quantidade de amostra necessária e tempo de análise, este será o método definido para uso por nosso grupo de pesquisa no laboratório.