

SALÃO DE  
INICIAÇÃO CIENTÍFICA  
**XXIX SIC**  
  
**UFRGS**  
PROPESQ



múltipla   
**UNIVERSIDADE**  
inovadora  inspiradora

<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2017: SIC - XXIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2017
<b>Local</b>	Campus do Vale
<b>Título</b>	Identificação e caracterização de proteínas ligadoras de heparina dos tecidos de <i>Rhipicephalus microplus</i> e <i>Fasciola hepatica</i>
<b>Autor</b>	LARISSA MACHADO DA SILVEIRA
<b>Orientador</b>	CARLOS TERMIGNONI

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

da Silveira, L.M.<sup>1,2,3</sup>; Termignoni C.<sup>1,3</sup>

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

**Introdução:** A heparina é um glicosaminoglicano sulfatado, sintetizada pela maioria das células animais. Possui a capacidade de ligar-se à diversas proteínas, devido aos seus variados sítios ativos, gerando categorias de proteínas ligadoras de heparina, como quimiocinas e citocinas (imunomoduladoras), fatores de crescimento (relacionados ao reparo e desenvolvimento celular), fatores da coagulação sanguínea, inibidor da coagulação (antitrombina III) e proteínas extracelulares estruturais. A heparina é amplamente utilizada por patógenos na interação com as 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.

**Metodologia:** Fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. microplus* foram dissecadas para obtenção de extratos proteicos de ovário, glândula salivar e intestino. Larvas de *R. microplus* também foram usadas para preparo de extrato de proteínas. Para a identificação de proteínas ligadoras de heparina nos extratos, cada um destes foi separado por cromatografia de afinidade em resina com heparina imobilizada (HiTrap™ Heparin HP, GE Healthcare), usando gradiente (0 a 2 M de NaCl) de eluição das proteínas em tampão fosfato de sódio 10 mM, pH 7,4 contendo NaCl 2 M. 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. As amostras de ovário foram coradas com o protocolo mais sensível, coloração por nitrato de prata. Os mesmos procedimentos foram seguidos para a cromatografia e análise das amostras de larvas de *Rhipicephalus microplus*. As amostras de *Fasciola hepatica* foram coletadas de um fígado parasitado enviado de um frigorífico da cidade de São Leopoldo. As mesmas foram colocadas em PBS (tampão fosfato salino) e posteriormente em meio de cultivo RPMI 1640 para que o conteúdo do intestino fosse excretado. As análises foram realizadas da mesma forma do que com os tecidos de carrapato.

**Resultados:** A técnica de SDS-PAGE permitiu observar proteínas abundantes com baixa afinidade em todos os tecidos de carrapato, exceto no extrato de glândula salivar, que não apresentou proteínas ligadoras de heparina. Individualmente, em intestino e larvas foram observadas bandas com migrações correspondentes a menos de 10 kDa de proteínas que eluíram com maior afinidade (mais de 1,5 M de NaCl). Em *Fasciola hepatica* foram observadas proteínas com cerca de 50 kDa eluídas com alta afinidade (2 M de NaCl).

**Conclusão:** Proteínas ligadoras de heparina encontram-se nos tecidos dos parasitos hematófagos: *Rhipicephalus microplus* e *Fasciola hepatica*. Análises posteriores de espectrofotometria de massas serão realizadas para identificar as proteínas ligadoras de heparina encontradas.

**Agradecimentos:** CNPq, CAPES, INCT-EM