Avaliação do potencial uso de microesferas de quitosana para purificação da Concanavalina A (ConA)

Edenilza Mendonça de Santana[1]* (IC), Fernando Mendonça Diz[2] (PG), Luiz Pereira da Costa[2] (PQ), Marcelo Leite dos Santos[1] (PQ) *denny.ems@hotmail.com

[1]Universidade Federal de Sergipe, Campus Prof. Alberto Carvalho, Itabaiana-SE. CEP: 49500-000. [2]Instituto de Tecnologia e Pesquisa, Universidade Tiradentes, Aracaju-SE. CEP: 49032-490.

Palavras Chave: *Purificação, ConA, quitosana.*

Introdução

A lectina Concanavalina A (ConA), extraída da semente de *Canavalia ensiformis*[1] (feijão-de-porco), tem elevada importância biotecnológica pelo reconhecimento específico de carboidratos[2], sendo amplamente utilizada na identificação de células tumorais[3]. Esta lectina pode ser obtida por diferentes técnicas de purificação, mas que apresentam elevado custo na sua produção. Uma alternativa que tem se mostrado promissora é a utilização de material adsorvente a base de quitosana. A eficácia desse método foi comprovada na literatura para purificação de aminoácidos[3]. No presente trabalho, realizou-se um estudo da purificação da ConA através do uso de microesferas de quitosana, obtidas e modificadas empregando técnicas nanotecnológicas por colaboradores[4], a fim de aumentar a porosidade destas esferas e potencializar a ligação da ConA.

Resultados e Discussão

Essas microesferas como matriz para purificação da ConA são interessantes porque a quitosana, possacarídeo natural, possui grupos que podem ser reconhecidos por lectinas. Quatro amostras de esferas, caracterizadas em trabalhos anteriores, foram empregadas[4]. A avaliação do potencial uso dessas microesferas foi realizada pela aplicação de extratos brutos da ConA em duas soluções diferentes: 0,15 $molL^{-1}$ de NaCl[5] e um tampão fosfato pH 6,0. Os extratos brutos foram encubados com as microesferas e analisados em gel de poliacrilamida. Após a encubação realizou-se a eluição das proteínas ligadas nas microesferas com uma solução de glicose 2 $molL^{-1}$, Figura 1.

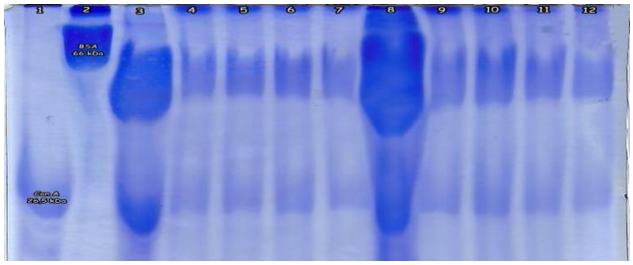

Figura 1. Gel de SDS-PAGE da eluição. 1) ConA comercial; 2) BSA comercial; 3) a 7) Extratos com NaCl; 8) a 12) Extratos com tampão pH 6,0. 3) e 8) Extratos; 4) e 9) Amostras controle; 5) a 7) e 10) a 12) Esferas.

Para quantificar as proteínas adsorvidas e eluídas realizou-se a análise as amostras pelo método de Bradford[6] (Figura 2), que apresentou a seguinte equação de curva de calibração: $y = 0,0087x + 0,1678$, com $R^2 = 0,913$.

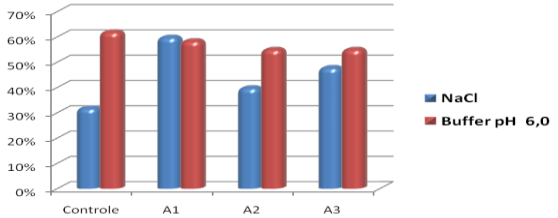

Figura 2. Avaliação das proteínas recuperadas após a eluição das quatro amostras de microesferas (controle, A1, A2 e A3) nas duas soluções extratoras diferentes.

Os resultados demonstram que há uma significativa ligação e eluição de proteínas em todas amostras e soluções empregadas. O tampão fosfato em pH 6,0 é superior para a recuperação das proteínas de interesse, mas neste tampão, o efeito do aumento da porosidade (A1→A3, 10-15 nm) é insipiente (Figura 2). É importante ainda observar que além da ConA outras proteínas se ligaram (Figura 1), o que representa falta de especificidade. Modificações nas microesferas estão sendo realizadas com epicloridrina e α-D-glicose, seguindo protocolos já estabelecidos[7], para melhorar a seletividade das microesferas de quitosana frente a ConA.

Conclusões

As microesferas de quitosana empregadas neste trabalho[4] apresentam um grande potencial para a purificação da ConA como material adsorvente para cromatografia de afinidade, principalmente do ponto de vista econômico, dado a abundância e facilidade de obtenção desse polissacarídeo natural.

Agradecimentos

PIBIC/CNPq DQCI/UFS

[1] Sumner, J.B.; *et al*. *Science*., **1938,** 395-396. [2] Correia, M.T.S.; *et al*. *Transworld Research Network*. ***2008.*** [3]Gabor, F.; *et al*. International Journal of Pharmaceutics. **2001**, 35-47. [4]Torres, M. A.; *et al*. Ciência e Tecnologia. **2005**, 306-312. [5]Soares, P. A.G.; *et al.* Journal of Chromatography B. **2011**, 457–460. [6]Bradford, M.M; Biochem. **1976**. 248–254. [7]Franco-Fraguasa, L.; *et al*. Journal of Chromatography B. **2003**, 365–372,