Medidas de tensão superficial para determinar interações específicas entre proteínas e carboidratos

Rafael S. N. Saito (IC), Alfredo Bonfá (IC), Denise F. S. Petri* (PQ)

Instituto de Química da Universidade de São Paulo, dfsp@iq.usp.br

Palavras Chave: *proteínas, carboidratos, tensão superficial, interface líquido-ar*

Introdução

O reconhecimento específico de carboidratos por biomoléculas tem um papel vital para muitos seres vivos. Por exemplo, concanavalina A (conA) é uma lectina que reconhece somente manose e glicose, já a jacalina é uma lectina que reconhece somente galactose[1]. Neste trabalho estudamos primeiramente o efeito tensoativo de duas biomoléculas, conA e hexokinase (HK). A HK é uma enzima que catalisa a fosforilação de glicose na rota glicolítica do sangue[2]. Numa segunda etapa avaliamos o efeito de diferentes açúcares na tensão superficial de soluções de conA e HK para avaliar as suas especificidades.

Resultados e Discussão

Isotermas de adsorção na interface líquido-ar de conA e HK foram obtidas a (24±1)^{o}C através de medidas de tensão superficial γ com tensiômetro Krüss K6 e anel de Du Nouy, como mostra a Figura 1. O efeito tensoativo de HK é maior do que o de conA, pois a tensão superficial da água foi reduzida de (72±1) mN/m para de (47±1) mN/m e de (62±1) mN/m, respectivamente. Através da isoterma de adsorção de Gibbs[3] a área ocupada por cada molécula de HK ou de conA na interface líquido-ar foi estimada como sendo 1.14 x 10^{-18}m^2/molécula e 2,78x^{-18} m^2/molécula, respectivamente. Estas áreas indicam a exposição parcial de conA ou HK para o ar, ou ~ 10 aminoácidos.

A Figura 2 mostra medidas de γ obtidas para HK (1,0 g/L) na presença de frutose, glicose e manose na faixa de concentração de 1 a 100 mmol/L, respectivamente. Nota-se que, já com 5 mmol/L γ aumentou de (47±1) mN/m para (50.8 ± 0.2) mN/m. Os valores de γ aumentaram continuamente com o aumento da concentração de carboidrato, até atingir o valor de (57±1) mN/m. Este efeito foi mais pronunciado no caso de glicose e frutose. No caso de conA a adição de galactose ao meio não surtiu nenhum efeito sobre γ, mas a presença de manose elevou a tensão de (62±1) mN/m para (67±1) mN/m (dados não apresentados). Antes da adição do açúcar havia uma monocamada de biomoléculas na interface líquido-ar. Quando há o reconhecimento específico da biomolécula pelo carboidrato adicionado ao meio, esta especificidade pode aumentar a solubilidade das biomoléculas no meio, deixando a interface líquido-ar pobre em substâncias tensoativas e, portanto, aumentando a tensão superficial.

Conclusões

Medidas de tensão superficial permitiram identificar afinidade maior de HK e conA por frutose e glicose do que por manose, concordando com trabalhos da literatura[1].

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq e FAPESP pelo apoio financeiro.

[1] Taylor, M. E.; Drickamer, K. *Jntroduction ot Glycobiology*. **2006**, 2nd ed. Oxford University Press.New York.
[2] Garret, H. R.; Grisham, C. M. *Biochemistry* **1995**, Saunders College Publishing.
3. Hiemenz, P. C., Rajagopalan *Principles of Colloid and Surface Chemistry* **1997**, 3rd ed. Marcel Dekker, New York.

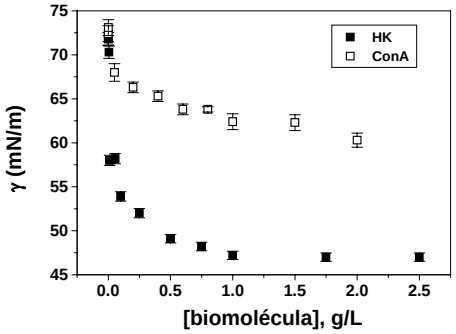

Figura 1. Isotermas de adsorção na interface líquido-ar de conA e HK foram obtidas a (24±1)^{o}C.

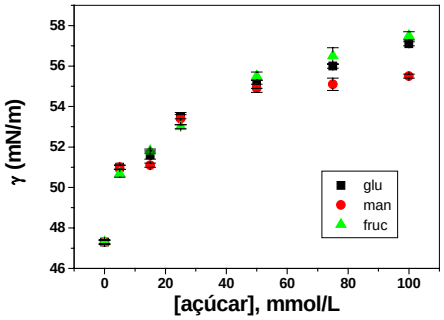

Figura 2. Medidas de tensão superficial de solução de HK (1,0 g/L) em função da concentração de glicose, manose e frutose obtidas a (24±1)^{o}C.