

Cobre em proteínas de plasma e tecidos muscular e hepático de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) separadas por 2D-PAGE

Renato de C. F. Neves (PG)¹, Fábio A. Silva (PG)¹, Marcelo A. O. da Silva (PG)², Mayra A. D. Saleh (PG)^{1*}, Felipe A. dos Santos (PG)¹, Paula M. Lima (PG)¹, Marco A. Z. Arruda (PQ)², Pedro de M. Padilha (PQ)³

1. FMVZ-UNESP, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Botucatu - SP; 2. UNICAMP – Instituto de Química – Departamento de Química Analítica, Campinas-SP; 3. IBB – UNESP, Depto. de Química e Bioquímica, Botucatu - SP; * dib_saleh@yahoo.com.br

Palavras Chave: Cobre, metaloproteínas, 2D-PAGE, tilápia do Nilo.

Introdução

A determinação de íons metálicos tem sido investigada em diversas áreas de conhecimento, tais como: bioquímica, química, medicina, nutrição, toxicologia, meio ambiente, entre outras. Esses íons metálicos apresentam papel importante nos sistemas biológicos estando ligados em sua maioria às proteínas. O complexo metal-proteína (metaloproteína) representa aproximadamente 40% de todas as proteínas e enzimas.¹⁻³ A identificação de íons metálicos ligados a essas biomoléculas é a base para estudos com materiais biológicos de diversas naturezas.³ Além disso, poderá trazer informações importantes para a área de fisiologia, nutrição, bioquímica, entre outras. Com base no exposto, o presente trabalho teve como objetivo mapear íons Cu em spots protéicos de amostras de plasma, tecidos muscular e hepático de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida em segunda dimensão (2D-PAGE) utilizando a micro-fluorescência de raios-X com radiação síncrotron (SR-XRF).

Os spots foram recortados do gel, secos com radiação infravermelha e analisados por SR-XRF com feixe de 500 µm. As leituras foram feitas em dois pontos do spot com tempo de 200 s. Os espectros obtidos das análises de cada spot de proteína foram processados por meio do programa AXIL, que permitiu a normalização da área dos picos das espécies químicas detectadas pela contagem do pico de argônio e, com isso, a correção da variação da intensidade do feixe da radiação síncrotron.

Resultados e Discussão

A análise dos géis revelou o aparecimento do cobre em 6 spots de proteínas do plasma, 3 spots de proteínas do músculo e 5 spots de proteínas do fígado de tilápia do Nilo.

As massas molares, bem como os respectivos pontos isoelétricos (pI) das proteínas que apresentaram são mostradas na Tabela 1.

32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Tabela 1. Massas molares (MM) e Pontos Isoelétricos (pI) de proteínas de amostras de plasma, tecidos muscular e hepático de tilápia do Nilo, separadas por 2D-PAGE, com cobre ligado.

Plasma		Fígado		Músculo	
MM (kDa)	pI	MM (kDa)	pI	MM (kDa)	pI
25,0	5,8	13,0	8,5	30,0	5,8
25,0	6,2	14,0	9,5	97,0	5,8
26,0	5,5	28,0	5,8	97,0	7,0
45,0	5,7	29,0	5,8	-	-
50,0	4,6	45,0	6,7	-	-
60,0	4,7	-	-	-	-

Conclusões

As análises dos spots protéicos revelou que das 14 proteínas encontradas nos três tipos de amostras o cobre está distribuído em proteínas com baixa massa molar, em sua maioria igual e/ou menor que 45 kDa. Proteínas com massa molar acima de 45 kDa foram encontradas duas no plasma (50,0 e 60,0 kDa) e duas no músculo (97,0 e 97,0 kDa). O ponto isoelétrico dessas proteínas ficou entre 4,7 e 6,2 para o plasma, entre 5,8 e 7,0 para o músculo e entre 5,8 e 9,5 para o fígado.

Agradecimentos

FAPESP (Processo 59778-0), ao CNPq (Processos: 474371/2007-7 e 300302/2008-8) e ao LNLS.

¹ Garcia, J. S.; Magalhães, C. S.; Arruda, M. A. Z. *Talanta* **2006**, 69, 1.

² Haraguchi, H. *J. Anal. At. Spectrom.* **2004**, 19, 5.

³ Jakubowski, N.; Lobinski, R.; Moens, L. *Anal. At. Spectrom.* **2004**, 19, 1.