

Estudo metaloproteômico do mercúrio em peixes coletados na área de influência do AHE JIRAU - Bacia do rio Madeira: Resultados preliminares

Paula M. Moraes¹ (PG)*, Felipe A. Santos¹ (PG), Gustavo R. Castro¹ (PQ), Luiz F. Zara² (PQ), Marco A. Z. Arruda^{3,4} (PQ), Wilson F. Jardim³ (PQ), Ademir dos Santos⁵ (PQ), Julio C. Rocha⁵ (PQ), Pedro M. Padilha^{1,4} (PQ). *paulamartin@ibb.unesp.br

¹ UNESP – Instituto de Biociências – Departamento de Química e Bioquímica, Botucatu-SP

² UNB Universidade de Brasília – Campus de Planaltina, Brasília-DF

³ UNICAMP – Instituto de Química – Departamento de Química Analítica, Campinas-SP

⁴ INCT Bioanalítica – Instituto de Química – Unicamp, Campinas-SP

⁵ UNESP – Instituto de Química – Departamento de Química Analítica, Araraquara-SP

Palavras Chave: Espécies mercuriais, metalômica, 2D-PAGE, SR XRF.

Introdução

A construção de complexos hidrelétricos no rio Madeira pode provocar processos de remobilização das espécies mercuriais, o que poderá contribuir para a bioacumulação e biomagnificação dessas espécies ao longo da cadeia trófica.¹ Estima-se que cerca de 50 toneladas de mercúrio, liberadas para o ambiente das atividades de garimpo de ouro, teriam se depositado nos corpos d'água e em solos próximos às margens do rio Madeira. Além disso, existe o mercúrio de origem natural, originário da Cordilheira dos Andes em função da erosão natural vulcânica.^{1,2} Assim, a elucidação dos mecanismos de toxicidade do mercúrio é fundamental para o desenvolvimento sócio-ambiental dessa região.

Considerando o exposto, o presente trabalho apresenta resultados preliminares do estudo metaloproteômico de mercúrio em duas espécies de peixes coletadas no AHE JIRAU – Bacia do rio Madeira utilizando-se 2D-PAGE e SR XRF, tendo como principal objetivo, a possível identificação de proteínas biomarcadoras de mercúrio.

Um pool de amostras de músculo de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e dourada (*Brachyplatystoma rousseauxii*) foi macerado em grau com água deionizada. Os extratos obtidos foram separados da fase sólida por centrifugação e transferidos para tubos do tipo Eppendorf®. As proteínas presentes nos extratos foram precipitadas com acetona a 80% v/v. Os precipitados obtidos foram solubilizados em tampão específico e aplicados em fitas de IEF com gel pré-fabricado com anfólitos imobilizados (pH 3-10). Após hidratação por 12 h as fitas foram levadas ao sistema de IEF para corrida em 1ª dimensão. Após essa etapa, as fitas foram equilibradas em tampão específico por 15 minutos e aplicadas em géis de poli-acrilamida a 12,5% m/v juntamente com padrões de massa molar, para corrida em 2ª dimensão. Ao término das etapas de separações, os spots protéicos foram fixados no gel e corados com Coomassie Blue. Em seguida, os spots foram recortados do gel, secos a temperatura ambiente e analisados por SR XRF.

Resultados e Discussão

A Figura 1 mostra um dos espectros obtidos para os spots protéicos nos quais foi identificada a presença de mercúrio por SR XRF.

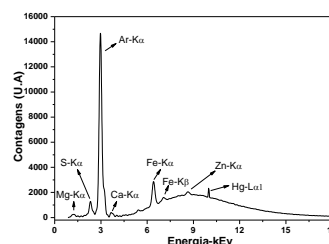


Figura 1. Espectro de SR XRF de um spot protéico do pool de amostras de músculo de pacu.

A análise dos espectros de fluorescência indicou a presença de mercúrio ($L_{\alpha 1} = 9,9$) em duas proteínas com massa molares de 25,1 kDa ($pI = 5,8$) e 23,0 kDa ($pI = 7,7$) no músculo de dourada e pacu, respectivamente. Nesses spots também foi detectada a presença de enxofre, o que sugere que essas proteínas apresentam cadeias laterais com grupos tióis (base mole), que apresentam grande afinidade por ácidos moles, como no caso, o mercúrio.

Conclusões

A utilização da 2D-PAGE como etapa inicial no estudo metaloproteômico do mercúrio em amostras de músculo de pacu e dourada do rio Madeira foi eficiente na extração das proteínas, preservando a estrutura metal-proteína, o que possibilitou a identificação de mercúrio em três spots protéicos por SR XRF.

Agradecimentos

FAPESP e ANEEL.

¹ Bastos, W. e Lacerda, L.D. *Geochimica Brasiliensis* **2004**, 18, 99.

² Lacerda, L. D.; Souza, M. e Ribeiro, M. G. *Environ. Pollut.* **2004**, 129, 247.