

## Efeito do NaCl na estabilidade térmica da hemoglobina extracelular de *Glossoscolex paulistus*, no pH 8,0, monitorado por SAXS.

José Wilson P. Carvalho (PQ)<sup>1,\*</sup>, Francisco Adriano O (PQ)<sup>1</sup>. Carvalho, Marcel Tabak (PQ)<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Química de São Carlos-IQSC, Universidade de São Paulo-(USP)

*jwilsonfamilia@gmail.com*

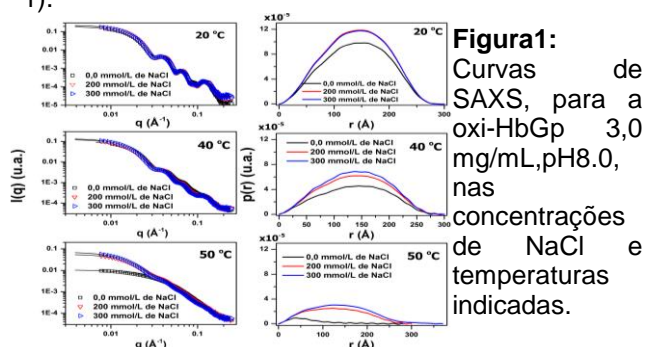
Palavras Chave: *Glossoscolex paulistus*, estabilidade térmica, NaCl, SAXS, pH.

### Introdução

A hemoglobina de *Glossoscolex paulistus* (HbGp) possui estrutura oligomérica composta por 144 cadeias globínicas e 36 cadeias linkers, que não possuem heme, formando uma bicamada hexagonal<sup>1</sup>. A HbGp possui alta estabilidade à variação de pH, temperatura e concentração de agentes desnaturantes (surfactantes e ureia, a 25°C)<sup>2,3</sup>, sendo apontada como modelo para o desenvolvimento de substituto sanguíneo (sangue artificial)<sup>1</sup>. O objetivo desse trabalho é avaliar o efeito do cloreto de sódio (NaCl), na estabilidade térmica da oxi- (Fe<sup>+2</sup>-O<sub>2</sub>) e cianometa-HbGp (Fe<sup>+3</sup>-CN), monitorado por SAXS (espalhamento de raios-X a baixo ângulo).

### Resultados e Discussão

Na fig.1 são apresentadas curvas de SAXS para oxi-HbGp, na ausência e na presença de NaCl, em diferentes temperaturas. A 20 °C a HbGp está na forma íntegra, e a curva de SAXS possui três ombros em valores de q iguais a 0,04, 0,07 e 0,012 Å<sup>-1</sup> (Fig. 1), associados a organização estrutural do oligômero (Fig. 1)<sup>3</sup>. Os valores de R<sub>g</sub> e D<sub>max</sub> da forma íntegra são 107±1Å e 300±10Å, respectivamente, para oxi- e cianometa-HbGp (Tab. 1).



**Figura 1:** Curvas de SAXS, para a oxi-HbGp 3,0 mg/mL, pH 8,0, nas concentrações de NaCl e temperaturas indicadas.

O aumento da temperatura induz claramente a dissociação oligomérica da oxi-HbGp na ausência de NaCl, a partir de 40 °C, sendo caracterizada pela perda dos ombros e da intensidade na curva de SAXS, característicos da forma íntegra. A dissociação oligomérica, também é acompanhada pela diminuição do valor de I(0) (Tab.1). A 50 °C, a oxi-HbGp encontra-se desnaturada caracterizada pelo aumento do R<sub>g</sub> e D<sub>max</sub> (Tab. 1). Na presença do

NaCl, a dissociação é menos intensa (Fig. 1 e Tab. 1). A cianometa-HbGp apresenta comportamento similar à forma oxi-HbGp, porém as temperaturas de dissociação e desnaturação são maiores (Tab. 1).

**Tabela 1.** Valores de R<sub>g</sub>(Å), D<sub>max</sub> (Å) e I(0) para oxi- e cianometa-HbGp 3,0mg/mL, pH 8,0, nas condições indicadas.

[NaCl], Parâmetros	20 °C	40 °C	50 °C	
<b>Oxi-HbGp</b>				
0,0	R <sub>g</sub>	107±2	106±3	112±2
	D <sub>max</sub>	300±10	280±10	500±10
	I(0)	0,20±0,01	0,09±0,01	0,02±0,01
200	R <sub>g</sub>	107±1	106±1	101±1
	D <sub>max</sub>	300±10	300±10	300±10
	I(0)	0,23±0,01	0,13±0,01	0,06±0,01
300	R <sub>g</sub>	107±1	107±1	109±1
	D <sub>max</sub>	300±10	300±10	370±10
	I(0)	0,23±0,01	0,18±0,01	0,07±0,01
<b>20 °C      50 °C      60 °C</b>				
<b>Cianometa-HbGp</b>				
0,0	R <sub>g</sub>	107±1	96±1	109±1
	D <sub>max</sub>	300±10	400±15	420±20
	I(0)	0,21±0,01	0,02±0,01	0,02±0,01
200	R <sub>g</sub>	107±1	107±1	147±1
	D <sub>max</sub>	300±10	300±10	500±20
	I(0)	0,20±0,01	0,11±0,01	0,05±0,01
300	R <sub>g</sub>	107±1	107±1	160±3
	D <sub>max</sub>	300±10	300±10	550±20
	I(0)	0,20±0,01	0,12±0,01	0,08±0,02

### Conclusões

O aumento da temperatura induz a dissociação oligomérica da oxi- e cianometa-HbGp, e a presença de NaCl estabiliza a proteína tornando a dissociação menos pronunciada. A cianometa-HbGp é mais estável que a oxi-HbGp.

### Agradecimentos

Ao Sr.Ezer Biazin, IQSC, FAPESP, CNPq e LNLS.

<sup>1</sup> Bacheга, J. F. R., Bleicher, L., Horjales, E. R., Santiago, P. S., Garratt, R. C., Tabak, M. J. *Synchrotron Rad.* **2011**, 18, 24-28.

<sup>2</sup> Carvalho, F.A.O., Carvalho, J.W.P., Tabak, M. *Recent Res. Anal. Biochem.* **2013**, 5, 1-25.

<sup>3</sup> J. W. P. Carvalho,; F. R. Alves, T. Batista,; F. A. O. Carvalho,; P. S. Santiago,; M. Tabak. *Colloids Surf., B*, **2013**, 111, 561-570.