

## Simpósio - Lectinas vegetais: purificação e aplicações biotecnológicas

### Explorando a versatilidade estrutural das lectinas de plantas para o isolamento e caracterização.

Patrícia M. G. Paiva, Andréa F. S. Santos, Regina M. S. Araújo, Roberto A. Sá, Juliene S. Coelho, Thiago H. Napoleão, Nataly D. L. Santos, Francis S. Gomes, Maria Tereza S. Correia & Luana C. B. Coelho.

Universidade Federal de Pernambuco.

Lectinas são proteínas que ligam carboidratos. A seleção do tecido vegetal como fonte de lectina é feita de acordo com a disponibilidade, propriedade bioativa ou uso na medicina popular. A presença de isoformas de lectinas aumenta o uso biotecnológico da planta. A ligação da lectina à superfície dos eritrócitos resulta em aglutinação e o ensaio de hemaglutinação é utilizado para a detecção de lectinas. A purificação de lectinas explora características da molécula como solubilidade, carga líquida, especificidade de ligação a carboidratos e massa molecular. A solubilidade da proteína de interesse define as etapas prévias de purificação. Embebição de sementes em água e extração de proteínas com NaCl resultou na solubilização de lectinas de sementes de *Moringa oleifera* e de *Cratylia mollis*. Precipitação salina tem sido ferramenta em protocolos de isolamento de lectinas desde que promove aumento de atividade específica, separa isoformas e disponibiliza preparações enriquecidas de lectina. A propriedade das proteínas assumirem carga líquida em função do pH do meio torna a cromatografia de troca iônica eficaz para isolamento de lectinas que diferem no seu conteúdo aminoacídico, contudo a interação eletrostática entre a lectina e o suporte pode provocar perda de atividade biológica. A natureza básica ou ácida da proteína pode também ser explorada para isolamento por eletroforese e proteínas ativas têm sido eluídas do gel de poliácridamida. A cromatografia de afinidade se fundamenta na interação específica da lectina, via seus sítios de ligação a carboidratos, ao ligante imobilizado. A dessorção da lectina pode ser efetuada por competição bioespecífica pelo sítio protéico ou por alteração nas condições do meio cromatográfico. Lectinas fortemente adsorvidas requerem condições drásticas de eluição do suporte, como baixo pH ou utilização de agente caotrópico. Lectinas específicas para N-acetilglicosamina, glicose e galactose têm sido isoladas à homogeneidade em colunas de quitina, Sephadex e gel de Guar, respectivamente. Cromatografia de filtração em gel promove purificação por tamanho molecular e tem como vantagem adicional definição da massa molecular nativa da lectina. Eletroforese, filtração em gel e difusão em gel de agarose definem a natureza oligomérica e glicoprotéica de lectinas. Estudos com lectinas purificadas revelam propriedades biológicas de potencial uso biotecnológico.

### **Preparação de lectinas de *Moringa oleifera* com atividade coagulante**

Andréa F. S. Santos; Luciana A. Luz; Adriana C. C. Argolo; Maria G. Carneiro-da-Cunha; José A. C. Teixeira; Antônio G. Brito; Regina O. B. Nogueira; Patrícia M. G. Paiva & Luana C. B. B. Coelho

Universidade Federal de Pernambuco, Universidade do Minho

*Moringa oleifera* é uma planta tropical com importância econômica e de usos industriais e medicinais. Diferentes partes da planta são aplicadas e o extrato de sementes é usado na purificação de água para consumo humano. O objetivo deste trabalho foi investigar a atividade hemaglutinante (AH) em tecidos de *M. oleifera*, purificar uma lectina de sementes solúvel em salina (SSMoL), avaliar a atividade coagulante de preparações lectínicas e SSMoL na água tratada com caolin e em solução de ácido húmico e caracterizar a afinidade de preparações lectínicas e SSMoL com ácido húmico. SSMoL foi isolada após extração da farinha de sementes em NaCl 0,15 M e cromatografia em gel de guar. Ensaio de AH foram realizados na presença de carboidratos, glicoproteínas, ácido húmico e compostos orgânicos halogenados. Experimentos de difusão com o ácido húmico e preparações lectínicas foram efetuados em gel de agarose. AH foi detectada em extratos salinos a partir de flores, raque da inflorescência, sementes, tecido de folha e tecido fundamental do tronco. SSMoL aglutinou eritrócitos de coelho e humanos e foi ativa na faixa de pH 4,0 a 9,0. AH de extratos de tecidos e SSMoL foram inibidas por carboidratos e glicoproteínas; azocaseína e asialofetúina aboliram a AH de SSMoL. AH do extrato, fração e SSMoL diminuiu significativamente na presença do ácido húmico. Nenhum efeito foi observado na presença dos ácidos tricloroacético e dicloroacético ou clorofórmio. Bandas de precipitação foram observadas através de difusão em gel entre ácido húmico, preparações lectínicas e SSMoL. A lectina básica foi termoestável a 100 °C durante 7 h. SDS-PAGE, em condições redutoras, revelou duas bandas. Preparações de sementes e SSMoL apresentaram atividade coagulante similar ao controle positivo, sulfato de alumínio. Em conclusão, extratos de tecidos de *M. oleifera* mostraram AH e uma lectina de sementes foi purificada. Preparações lectínicas e SSMoL mostraram propriedades coagulantes na água tratada com caolin e em solução de ácido húmico. Resultados similares foram encontrados com o sulfato de alumínio, o mais comum coagulante sintético usado no tratamento da água em todo mundo. Portanto, preparações de sementes de *M. oleifera* e SSMoL podem ser aplicadas no tratamento da água e para remover ácidos húmicos.

Palavras-chaves: *Moringa oleifera*, purificação de água, lectina, atividade coagulante.