

ESTUDOS PRELIMINARES DE UMA LECTINA DE SEMENTES DE *PARKIA PLATYCEPHALA* BENTH.

Grangeiro, T.B.²
De Oliveira, J.T.A.¹
Moreira, R.A.¹
Cavada, B.S.¹

RESUMO – Sementes de *Parkia platycephala* Benth. possuem uma lectina que é melhor extraída a pH 4,0 e pode ser isolada por cromatografia de afinidade em coluna de Sephadex G-50. A lectina aglutina eritrócitos de coelho mas não aglutina hemácias humanas (A, B e O), de boi, de carneiro ou de galinha. D-glicose, D-manose, D-frutose e derivados mostraram ser açúcares inibidores da atividade hema-glutinante, sendo que alfa-metil-glicosídeo e alfa-metil-manosídeo foram os mais potentes inibidores entre os açúcares testados.

Palavra-chave: Lectina, *Parkia platycephala*.

ABSTRACT – Seeds of *Parkia platycephala* Benth. have a lectin which is best extracted at pH 4,0 and partially purified using a Séphadex G-50 column as an affinity adsorbent. The lectin agglutinates rabbit erythrocytes but not those of cow, sheep, chicken or human D-glucose, D-mannose, D-fructose and derivatives act as inhibitors of the lectin with o-methyl-glucopyranoside and O-methyl-mannopyranoside being the most potent ones.

Key words: Lectin, *Parkia platycephala*.

Introdução

Lectinas são proteínas, ou glicoproteínas, que possuem a capacidade de aglutinar eritrócitos e outros tipos de células. Apesar de sua ampla distribuição na natureza, as lectinas são encontradas principalmente em sementes de plantas e, em menor quantidade, em raízes, folhas e caules (Sharon & Lis, 1972). As sementes de leguminosas têm se mostrado uma excelente fonte de lectinas,

1 – Departamento de Bioquímica Molecular Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Caixa Postal 1065 – 60.001 – Fortaleza – CE.

2 – Bolsista de iniciação científica do CNPq.

as quais chegam a constituir, em alguns casos, mais de 10% das proteínas solúveis presentes no extrato de sementes maduras. Dentro da família Leguminosae, as lectinas constituem uma classe bastante homogênea de proteínas, o que sugere que as mesmas foram conservadas durante o processo de evolução das espécies pertencentes a esta família, como também reflete o grau de relacionamento taxonômico entre as mesmas (Etzler, 1985, Rougé *et al.*, 1987). No presente trabalho são apresentados alguns dados preliminares referentes ao isolamento de uma lectina de sementes de *Parkia platycephala* Benth, leguminosa mimosoidea.

Material e métodos

Material vegetal.

As sementes de *Parkia platycephala* Benth. foram coletadas no município de Granja, Estado do Ceará, Brasil. Extração de proteínas. A farinha de sementes descorticadas de *Parkia platycephala* foi colocada para extrair, numa relação 1:10 (p/v), com tampão acetato de sódio 0,2M, pH 4,0 contendo NaCl 0,15M, durante 12 horas, após o que foi centrifugada a 15.000g, por 20 minutos a 4°C. O extrato total obtido foi utilizado nas determinações posteriores.

Dosagem de proteínas

A determinação de proteínas nos diferentes extratos foi realizada segundo o método de Bradford (1976), utilizando-se albumina sérica bovina como padrão. A absorbância a 280nm foi utilizada para dosar proteínas em eluatos cromatográficos.

Atividade hemaglutinante.

A atividade hemaglutinante no extrato total e nas frações foi determinada segundo o método descrito por Moreira & Perrone (1977), usando-se uma suspensão a 2% de hemácias humanas (A, B e O) e de vários animais. A atividade hemaglutinante específica foi expressa como unidade de hemaglutinação (U.H.) mg^{-1} . Uma U.H. foi estabelecida como a concentração de proteínas por ml no último tubo que apresentou hemaglutinação visível.

Inibição da Atividade Hemaglutinante por Açúcares

Soluções de diferentes açúcares (0,25ml) na concentração inicial de 1M, foram submetidas a diluições seriadas 1:2 e, posteriormente, a cada diluição

Tabela 1 – Especificidade por Hemácias do Extrato Total de *Parkia platycephala* Benth.

Hemácias (2%)	Título (U.H./ml)
Coelho	32
Boi	–
Cabra	–
Ovelha	–
Galinha	–
Humano A	–
B	–
O	–

Tabela 2 – Ensaio de Inibição da Atividade Hemaglutinante do Extrato Total de *Parkia platycephala* Benth. por Açúcares.

Açúcar (1M)	Concentração Mínima Para Inibir 1 UH (mM)
Arabinose	NI*
Frutose	31,25
Galactose	NI
Glucose	125,0
Alfa-Metil-Glucosídeo	15,62
Lactose	NI
Manose	15,62
Alfa-Metil-Manosídeo	15,62
Rafinose	NI
Ramnose	NI
Sacarose	250,0
Xilose	NI

* NI – Não Inibiu

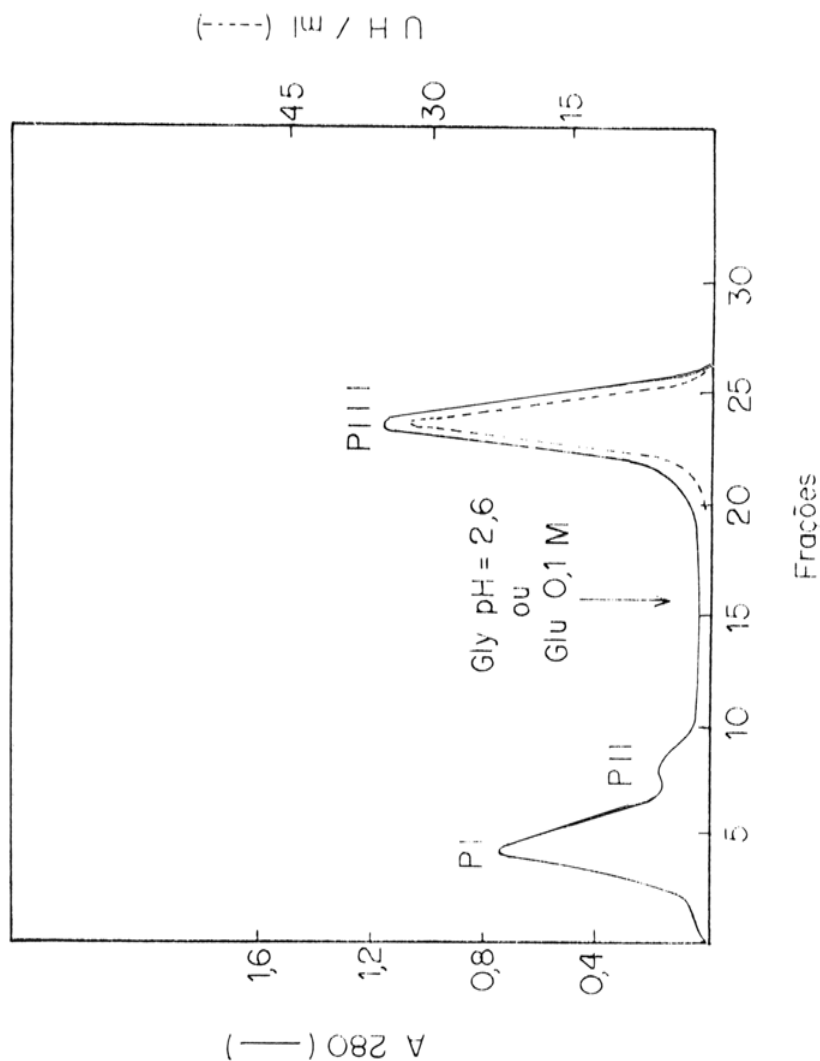


Figura 1 - Cromatografia de afinidade em coluna de Sephadex G-50 do extrato total de *Parkia platycephala*. Gly pH 2,6: Tampão glicina-HCl 0,1M, pH 2,6 contendo NaCl 0,15M. Glu 0,1M: NaCl 0,15M contendo glicose 0,1M (—, A 280; ---, A 280; ···, U.H./ml).

adicionou-se extrato total (0,25ml) a uma diluição correspondente ao dobro da unidade de hemaglutinação, determinada previamente. As amostras diluídas foram colocadas na estufa a 37°C por 30 minutos, 0,5ml de solução de hemácias a 2% foi então adicionado a cada uma, e o título de hemaglutinação foi determinado.

Cromatografia de Afinidade em Coluna de Sephadex G-50

O extrato total foi aplicado em uma coluna de Sephadex G-50 equilibrada com NaCl 0,15M contendo Ca⁺⁺ e Mn⁺⁺ 5mM. A eluição foi feita com a solução de equilíbrio seguido da mesma solução contendo Glicose 0,1M.

Resultados e discussão

O extrato total a pH 4,0 de farinha de sementes de *Parkia platycephala*, previamente determinado como sendo a melhor condição de extração, quando submetido a ensaio de hemaglutinação frente a hemácias humanas e de vários animais, apresentou os resultados sumarizados na Tabela 1. Nenhuma atividade hemaglutinante foi detectada com relação a hemácias humanas (A, B e O) e no caso de hemácias de animais, o extrato total aglutinou somente hemácias de coelho, sendo incapaz de aglutinar hemácias de boi, cabra, ovelha e galinha. A atividade hemaglutinante presente no extrato total é detectada com o uso de hemácias de coelho foi inibida por glucose, manose, frutose e seus derivados (Tabela 2). Estes resultados permitem classificar os açúcares inibidores da lectina presente neste extrato como pertencentes ao grupo 3 de Mäkela (Mäkela, 1957). Em função dos resultados obtidos com a inibição da atividade hemaglutinante por açúcares, o extrato total foi aplicado a uma coluna de Sephadex G-50 (Figura 1), onde obteve-se a fração ativa PIII (lectina), que contém toda a atividade hemaglutinante, perfazendo 67,8% da proteína total aplicada à coluna.

Referência bibliográficas

- BRADFORD, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.
- ETZLER, M.E. 1985. Plant Lectins: Molecular and Biological Aspects. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 36:209-34.
- MÄKELA, O. 1957. "Studies on Hemagglutinins of Leguminosae Seeds".

Weilin & Goos, Helsink.

- MOREIRA, R.A. & J.C. PERRONE, 1977. Purification and partial characterization of lectin from *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol.* 59:783-787.
- ROUGÉ, P., M. RICHARDSON, A. YARWOOD & B.S. CAVADA, 1987. Single and two chain legume lectins as phylogenetic markers of speciation. *Biochem. System. Ecol.* 15:341-348.
- SHARON, N., & H. LIS, 1972. Lectins: Cell-Agglutinating and Sugar-Specific Proteins. *Science.* 177 (4053):951-959.