



XXV Congresso de Iniciação Científica da Unicamp

18 a 20 Outubro Campinas | Brasil

25
anos

2017



Interações da glicoproteína associada à microfibrila (MAGP-1) com proteínas de plaquetas e do plasma

Giuliana R. P. Peres*, Camila W. Leme, Cristina P. Vicente, Cláudio C. Werneck.

Resumo

A glicoproteína associada à microfibrila tem papel fundamental na trombogênese, visto que a sua ausência (camundongos deficientes em MAGP-1) em ensaios de trombose arterial levaram a um tempo de oclusão (formação de trombo) quase duas vezes maior do que quando presente (camundongos selvagens). Os experimentos com MAGP-1 e mutada visaram identificar as diferentes interações destas com proteínas do plasma e plaquetas. Foram observadas diferentes interações na eletroforese em gel de poliacrilamida para MAGP-1 e MAGP-VG após o ensaio de pull-down com plasma humano.

Palavras-chave:

MAGP-1, trombose, plaquetas.

Introdução

A MAGP-1, glicoproteína associada à microfibrila, é uma proteína integrante da rede de microfibrilas de quase todos os vertebrados¹. Camundongos nulos para MAGP-1, em ensaio de trombose arterial, levaram o dobro do tempo para a formação do tempo quando comparado a camundongos selvagens, e a injeção de MAGP-1 recombinante recuperou o tempo de oclusão². A MAGP-VG, mutado nos dois resíduos de valina da região C-terminal, contudo, não apresentou o mesmo resultado quando previamente injetada nos camundongos, o que nos leva a crer que o peptídeo em questão tem papel fundamental na trombogênese. Deste modo, este trabalho teve como objetivo estudar as interações da MAGP-1 e da MAGP-VG com proteínas do plasma e de plaquetas.

Resultados e Discussão

As proteínas foram expressas em *E. coli* transformada com o cassete que confere resistência aos antibióticos ampicilina e canamicina. A purificação é feita por cromatografia de afinidade com resina Ni-NTA agarose, em que os seis resíduos de histidina inseridos na cauda N-terminal irão se ligar. A eluição é feita com tampão de pH 4,5.

Neste ponto, é feita uma eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS, a fim de nos certificarmos da presença das proteínas de interesse na solução purificada obtida, e podermos dar sequência no experimento com a coleta do sangue humano.

O plasma rico em plaquetas foi separado das hemácias por centrifugação e ressuspenso em solução de Krebs.

O ensaio de pull-down foi feito a partir da incubação das proteínas recombinantes com o plasma rico em plaquetas, em resina de níquel (Ni-NTA), e o extrato foi lavado com tampão B.

O extrato de proteínas recombinantes com plasma rico em plaquetas foi submetido a uma eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS, tanto para MAGP-1 quanto para MAGP-VG. O resultado observado foi o aparecimento de diferentes bandas nas duas variedades da MAGP, o que reforça a importância dos dois resíduos de valina da região C-terminal para a ligação com diferentes fatores envolvidos no processo de trombogênese. A identificação dessas proteínas ainda não foi feita. Contudo, algumas

interações da MAGP-1 já são conhecidas, como com o fibrinogênio, fibronectina e fator de von Willebrand².

Conclusões

A partir da análise do gel de eletroforese, pode-se confirmar que ocorrem diferentes interações entre MAGP-1 e proteínas de plaquetas e do plasma e entre a MAGP-VG com estas últimas, corroborando a hipótese do papel dos dois resíduos de valina na cauda C-terminal no processo de trombogênese.

Os resultados obtidos neste experimento servirão de base para pesquisas futuras, para a devida identificação das proteínas por espectrometria de massa.

Agradecimentos

CNPq, Laboratório de Genômica e Proteômica.

¹ Mecham, R. P. e Gibson, M. A. *Matrix Biology*. **2015**, 13, 33.

² Werneck, C. C.; Vicente, C. P.; Weinberg, J. S.; Shifren, A.; Pierce, R. A.; Broekelmann, T. J.; Tollefsen, D. M. e Mecham R. P. *Blood*. **2008**, 4137, 4144.