

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DOUTORADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

SANDRA RODRIGUES DE SOUZA

AVALIAÇÕES ELETROQUÍMICAS DAS LECTINAS DE *Cratylia mollis* Mart. (feijão camaratu) E DE *Bauhinia monandra* Kurz. (pata-de-vaca).

Recife – Brasil
2002

SANDRA RODRIGUES DE SOUZA

AVALIAÇÕES ELETROQUÍMICAS DAS LECTINAS DE *Cratylia mollis* Mart. (feijão camaratu) E DE *Bauhinia monandra* Kurz. (pata-de-vaca).

Tese apresentada ao Curso de
Doutorado em Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Pernambuco
para obtenção do Título de Doutor em
Ciências Biológicas, Área de
Concentração – Biotecnologia.

Orientadora:

Profa. Dra. Luana Cassandra Breitenbach Barroso
Coelho (UFPE)

Co-orientador:

Prof. Dr. José Luíz de Lima Filho (UFPE)

Consultoria científica:

Profa. Dra. Martha Maria Andrade Pessoa (UFRPE)

AVALIAÇÕES ELETROQUÍMICAS DAS LECTINAS DE *Cratylia mollis* Mart. (feijão camaratu) E DE *Bauhinia monandra* Kurz. (pata-de-vaca).

Sandra Rodrigues de Souza

Banca examinadora:

_____ **Depto. de Engenharia**
Profª. Dra. Valdinete Lins da Silva **Química – UFPE**

_____ **Depto. de Bioquímica**
Profª. Dra. Maria Tereza dos Santos Correia **UFPE**

_____ **Depto. de Bioquímica**
Profª. Vera Lúcia de Menezes Lima **UFPE**

_____ **Depto. de Bioquímica/**
Prof. Dr. José Luis de Lima Filho **LIKA-UFPE**

_____ **Profª. Dra. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho**

Depto. de Bioquímica

ORIENTADORA

RESUMO

A lectina de sementes de *Cratylia mollis* (Cra) reconhece glicose/manose e apresenta propriedades similares a concanavalina A, Con A, uma lectina já bastante caracterizada de sementes de *Canavalia ensiformes*. A lectina de folha de *Bauhinia monandra* (BmoLL), específica para galactose, tem sido purificada através de fracionamento com sulfato de amônia e cromatografia de afinidade em gel de guar. O potencial eletroquímico para Cra, Con A e BmoLL foi obtido através de técnicas potenciostáticas usando uma solução salina como suporte para controle da distribuição de cargas entre o eletrodo de calomelano saturado e o eletrodo de platina como eletrodo de trabalho, em um meio aerado. O potencial eletroquímico positivo determinado para Cra (+94 mV) e Con A (+88 mV) indicou uma alta sensibilidade dos eletrodos utilizados. O potencial eletroquímico de interação foi investigado com a Cra imobilizada sobre contas de vidro ativadas com 3-aminopropiltriétoxissilano (APTES). Este potencial descreveu um comportamento linear em relação ao aumento da concentração com um alto coeficiente de correlação ($r = 0,9969$). BmoLL imobilizada apresentou um potencial eletroquímico positivo de

interação com diferentes concentrações de galactose (0, 50, 100, 150 e 200 mM). Um sistema amperométrico foi desenvolvido para caracterizar a especificidade de ligação a carboidratos da Cra. Medidas foram realizadas na faixa de concentração de 0 – 550 mM de glicose, frutose ou sacarose. Os resultados observados sugeriram que uma maior área de superfície do eletrodo aumenta a estabilização na interface da dupla camada elétrica interface. O sistema eletroquímico foi desenvolvido para avaliar as trocas de cargas nas superfícies de Cra e BmoLL livres ou imobilizadas quando estas lectinas interagem com carboidratos.

Palavras chaves: *Bauhinia monandra*, *Cratylia mollis*, eletroquímica, lectina imobilizada, lectina, potencial eletroquímico, sistema amperométrico.

ABSTRACT

The seed lectin from *Cratylia mollis* (Cra) recognize glucose/mannose and have properties, similar to Concanavalin A, Con A, a well characterized lectin from *Canavalia ensiformis* seeds. *Bauhinia monandra* leaf lectin (BmoLL), galactose-specific, has been highly purified through ammonium sulphate fractionation and guar gel affinity chromatography. The electrochemical potential for Cra, Con A and BmoLL was obtained by potentiostatic techniques, using a saline solution as support to control the distribution of charges between a saturated calomel electrode (ECS) and platinum electrode as the working electrode, in aerated environment. The positive electrochemical potential determined for Cra (+94 mV) and Con A (+88 mV) indicated the high sensitivity of used electrodes. The interaction electrochemical potential was investigated with Cra immobilized on glass beads activated with 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES). This potential described a linear behaviour in relation to the increase in glucose concentration with a high correlation coefficient ($r = 0.9969$). Immobilized BmoLL showed positive electrochemical potential of interaction with different concentrations of galactose. An amperometric system was developed to characterize the carbohydrate binding specificity of Cra. Measurements were

carried on the concentration range of 0– 550 mM glucose, fructose or sucrose. The observed results suggested that a higher electrode surface area increases the stabilization of the double electric layer at electrode/solution interface. The electrochemical system was developed to evaluate the charge exchange in the superficies of Cra and BmoLL, free or immobilized when these lectins interact with carbohydrates.

Key words: *Bauhinia monandra*, *Cratylia mollis*, electrochemistry, lectin, immobilized lectin, electrochemical potential, amperometric system.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	I
RESUMO	IV
ABSTRACT	VI
INTRODUÇÃO	
1 LECTINAS: PROTEÍNAS QUE RECONHECEM CARBOIDRATOS SELETIVAMENTE	02
2 INTERAÇÃO: LECTINA-CARBOIDRATOS	04
3 ABORDAGEM ELETROQUÍMICA PARA EXPLORAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CARGAS EM SISTEMAS BIOLÓGICOS	06
4 IMOBILIZAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS A SUPERFÍCIE DE UM TRANSDUTOR.	09
5 OBTENÇÃO DE CORRENTES AMPEROMÉTRICAS EM BIOSISTEMAS	11
6 LECTINAS: <i>Cratylia mollis</i> (SEMENTES) e <i>Bauhinia monandra</i> (FOLHAS).	16

OBJETIVO GERAL 17

OBJETIVOS ESPECÍFICOS 17

CÁPÍTULO 1

CARACTERIZAÇÃO DOS POTENCIAIS ELETROQUÍMICOS DAS LECTINAS DE *Cratylia mollis* e *Bauhinia monandra* 18

ÚA novel model to characterize the double electric layer of lectins from *Cratylia mollis* (Camaratu bean) and *Canavalia ensiformis* in metallic surface. 19

ÚElectrochemical potential of free and immobilized *Cratylia mollis* seed lectin. 23

ÚElectrochemical potential of *Bauhinia monandra* leaf lectin. 28

ÚMeasurements of the double electric layer from *Cratylia mollis* lectin free and immobilized on glass beads. 39

CÁPÍTULO II

CARACTERIZAÇÃO AMPEROMÉTRICA DA INTERAÇÃO COM CARBOIDRATOS DAS LECTINAS DE *Cratylia mollis* e *Bauhinia monandra* 50

Ú Characterization of carbohydrate binding specificity and kinetic parameters from *Cratylia mollis* lectin using an amperometric biosensor. 51

Ú Detection carbohydrate interactions with *Cratylia mollis* seed lectin using an electrochemical system. 62

DISCUSSÕES GERAIS 84

CONCLUSÕES 90

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 92

APÊNDICE