

# HEMOGLOBINAS DE LEPTODACTYLUS VASTUS: UM MODELO PARA ENTENDER A BASE MOLECULAR DE ADAPTAÇÕES FUNCIONAIS EM HEMOGLOBINAS DE ANFÍBIOS

XXXVIII Encontro de Iniciação Científica

Jose Gabriel da Silva Gomes, João Pedro Fernandes Queiroz, Eduardo Henrique Salviano Bezerra, Rômulo Farias Carneiro, Bruno Anderson Matias da Rocha

*Leptodactylus vastus*, conhecida como rã pimenta nordestina, é um anfíbio de hábitos semiaquáticos endêmico da região nordeste do Brasil. O anuro habita formações como Cerrado e Caatinga. Na literatura, relata-se a existência de moléculas com potenciais biotecnológicos encontradas nessa espécie, como as proteínas de seu ninho de espuma. Entretanto, não há estudos sobre as hemoglobinas dessa rã. O objetivo deste estudo é avaliar aspectos estruturais e funcionais relacionados a adaptações respiratórias da hemoglobina de *L. vastus*. Para o estudo, capturou-se animais na Área de Relevante Interesse Ecológico da Matinha do Pici com a devida autorização do SISBIO. O sangue coletado dos espécimes foi centrifugado a fim de obter eritrócitos, os quais foram lisados e centrifugados com o intuito de aplicar o extrato bruto a uma cromatografia de troca iônica em CM-Sepharose. Para avaliar o conteúdo proteico das amostras obtidas, utilizou-se SDS-PAGE (15%) em condições redutoras e não redutoras, além de espectrofotometria em dois comprimentos de onda, 280 nm e 540 nm. A Curva de Dissociação do Oxigênio (CDO) da hemoglobina foi obtida pelo método de Gilles-Gonzalez et al. (2008). Dicroísmo circular foi o método utilizado para a determinação da estrutura secundária da hemoglobina e sua termoestabilidade. Para a tentativa de cristalização da proteína, fez-se screens em placas de 24 poços pelo método da matriz esparsa e a técnica da gota suspensa. A partir dos experimentos realizados, três isoformas de hemoglobina foram purificadas pela cromatografia de troca iônica, apresentando alta afinidade por O<sub>2</sub> ( $K_d = 4,5 \mu\text{M}$ ) e baixa cooperatividade ( $n_H = 1,24$ ) intrínsecas. A proteína apresentou alta termoestabilidade ( $T_m = 75 \text{ }^\circ\text{C}$ ) e predominância de hélices  $\alpha$ . Não foi possível determinar a melhor condição para cristalização da hemoglobina de *L. vastus*. Mais experimentos esclareceriam a relação estereoquímica com as funções da hemoglobina de anfíbios.

Palavras-chave: Hemoglobina. Dicroísmo circular. Isoformas. Anfíbios.