



RESUMO

Purificação e caracterização de imunoglobulinas séricas do jundiá.

AUTOR PRINCIPAL:

Monteiro, Ariane Roani

E-MAIL:

ariane_roani@hotmail.com

TRABALHO VINCULADO À BOLSA DE IC::

Pibic CNPq

CO-AUTORES:

Frاندoloso, Rafael

Barcellos, Leonardo José Gil

ORIENTADOR:

Kreutz, Luiz Carlos

ÁREA:

Ciências Agrárias

ÁREA DO CONHECIMENTO DO CNPQ:

Medicina Veterinária

UNIVERSIDADE:

Universidade de Passo Fundo

INTRODUÇÃO:

O Jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard Pimelodidae, 1824), é um peixe de água doce, encontrado em praticamente todo o Brasil. Vive em rios com fundo arenoso, próximo a boca do canal, onde alimenta-se. Peixe rústico, altamente prolífero, se adapta bem a criação intensiva, caracteriza-se por resistir bem ao rigor do inverno, rápido ganho de peso nos meses mais quentes (Gomes et al., 2000) e apresenta carne ao paladar do consumidor. No entanto, criação em cativeiro propicia condições para a disseminação de doenças. A proteção depende da resposta imune, que não é bem conhecido nessa espécie. Conseqüentemente, não se dispõe de métodos de diagnóstico imunológico apropriados. A carência de informações sobre as Imunoglobulinas pertencentes ao Jundiá representa um gargalo no diagnóstico e pesquisa a respeito do tratamento e prevenção das infecções. O presente trabalho teve como objetivo purificar e caracterizar imunoglobulinas do sangue de jundiás e produzir antisoro específico em coelho.

METODOLOGIA:

O soro sanguíneo para purificação das imunoglobulinas foi obtido de diversos jundiás. O soro a 4°C, diluído em tampão e concentrado em colunas de Amicon. Adicionado à uma coluna de afinidade IgM (Immunopure-IgM, Pierce, Rockford, Ill), incubado por 30 minutos a 4°C, frações de 1 ml coletadas, presença da imunoglobulina investigada por espectrofotometria (595 nm), determinação de proteínas, método de Bradford(1976) e análise em gel de poliacrilamida a 7,5 %, seguindo protocolo padrão. As frações com níveis de proteínas elevados agrupadas e concentração determinada. Após determinação estimou-se peso molecular, as frações de imunoglobulinas misturadas com adjuvante completo de Freund, inoculadas no subcutâneo de coelhos. Após 14 e 28 dias, as proteínas foram novamente injetadas, utilizando-se adjuvante incompleto. Amostras coletadas a cada 14 dias, verificando a reatividade com imunoglobulinas de Jundiá. A atividade das imunoglobulinas do Jundiá foi testada em imunoenaios tipo dot-blot

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

As proteínas purificadas a partir da coluna de cromatografia (IgM pure) apresentaram peso molecular de aproximadamente 70 KDa, similar a IgM humana, que foi analisada paralelamente para fins de comparação. Os coelhos imunizados com essa proteína produziram anticorpos específicos reativos entre 14 e 28 dias. Em ensaios tipo dot-blot, foi possível verificar que o antisoro de coelhos reagiu de forma específica contra as proteínas usadas na imunização. Além disso, em ensaios para análise da funcionalidade das imunoglobulinas, foi possível constatar que a proteína purificada pela cromatografia apresentava características similares a IgM humana e que, em ensaios imunológicos para verificar a função biológica, a proteína purificada se comportava como uma imunoglobulina, reagindo de forma específica contra antígenos inoculados em jundiás. A proteína obtida apresentou tamanho similar a IgM humana e similar à de outros peixes (Swain et al., 2004).

CONCLUSÃO:

A forma usada permite isolamento e caracterização adequados das imunoglobulinas séricas do jundiá. As imunoglobulinas purificadas tem peso molecular similar a IgM humana,mostraram-se imunogênicas quando inoculadas em coelhos. Em ensaios práticos,mostraram reatividade contra antígenos específicos, condizentes com características das imunoglobulinas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Bradford,A. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem,v.72, p.248, 1976.
- Gomes,L.C.,Golombieski, J.,Chippari-Gomes, A.R.,Baldisserotto,B.Biologia do jundiá Rhamdia quelen (Teleostei, Pimelodidae).Ciencia Rural, 30(1),179-185, 2000.
- Swain,T.;Mohanty, J.;Sahu,A.K.One step purification and partial characterization of serum immunoglobulin from Asiatic catfish(Clarias batrachus L.)Fish & Sh

Assinatura do aluno

Assinatura do orientador