



## II CONPESQ Congresso de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação

Os novos rumos da ciência pós-pandemia

12 a 16 de abril de 2021 Universidade Federal do Cariri - UFCA

# ESTUDO VOLTAMÉTRICO DA INTERAÇÃO DA LECTINA DE *CANAVALIA BRASILIENSIS* COM GLICOSE

**Marcelo Felipe Lino do Couto Pinto<sup>1</sup>**

Centro de ciência e tecnologia  
Universidade Federal do Cariri  
[linomarcelo2020@gmail.com](mailto:linomarcelo2020@gmail.com)

**Luiz Carlos do Carmo Arrais Junior<sup>2</sup>**

Centro de ciência e tecnologia  
Universidade Federal do Cariri  
[luizcarlosarrais@gmail.com](mailto:luizcarlosarrais@gmail.com)

**André Oliveira Santos<sup>3</sup>**

Centro de ciência e tecnologia  
Universidade Federal do Cariri  
[andrehosantos@gmail.com](mailto:andrehosantos@gmail.com)

**Vanessa Erika Abrantes Coutinho<sup>4</sup>**

Centro de ciência e tecnologia  
Universidade Federal do Cariri  
[vanessaerika.bio@gmail.com](mailto:vanessaerika.bio@gmail.com)

**Thiago Mielle Brito Ferreira Oliveira<sup>5</sup>**

Centro de ciência e tecnologia  
Universidade Federal do Cariri  
[thiago.mielle@ufca.edu.br](mailto:thiago.mielle@ufca.edu.br)

## 1 INTRODUÇÃO

Lectinas são proteínas de origem não-imunológica que apresentam pelo menos um domínio não-catalítico de ligação específica e reversível a açúcares, podendo ser encontradas em animais, plantas e microrganismos (CAVADA, 2001). Devido à capacidade de ligação à carboidratos, estas moléculas podem ser identificadas em extratos vegetais através de testes de

- 
- 1 Será preenchido pela Comissão após avaliação com as informações dos metadados da submissão.
  - 2 Será preenchido pela Comissão após avaliação com as informações dos metadados da submissão.
  - 3 Será preenchido pela Comissão após avaliação com as informações dos metadados da submissão.
  - 4 Será preenchido pela Comissão após avaliação com as informações dos metadados da submissão.
  - 5 Será preenchido pela Comissão após avaliação com as informações dos metadados da submissão.

aglutinação de hemácias (RAMOS, 2002; LANNOO & VAN DAMME, 2010; MIGUEL, 2015).

Os carboidratos, também conhecidos como glicídios ou açúcares, são moléculas presentes nos seres vivos, assim como lipídios, proteínas e ácidos nucleicos. A concordância das distintas funções bioquímicas de cada uma dessas moléculas proporciona a integridade da célula e de todos os processos metabólicos, fisiológicos e genéticos dos organismos vivos. A partir da década de 1970, com o surgimento de técnicas avançadas de análise química e física, como a cromatografia, eletroforese e a espectrometria, foi possível ampliar a compreensão das funções dos carboidratos. Sabe-se agora que eles participam da sinalização entre células e da interação entre outras moléculas, ações biológicas essenciais para a vida (POMIM, 2006).

A *Canavalia brasiliensis*, popularmente conhecida como feijão-bravo-do-Ceará, é uma espécie vegetal cujas sementes são fontes da lectina ConBr (FERNANDES, 2011). A ConBr apresenta pelo menos um domínio não-catalítico, permitindo que essa lectina reconheça seletivamente e se ligue de maneira reversível a açúcares ou glicanos livres específicos (manose ou glicose) presentes em glicoconjugados (MIGUEL, 2015). Essa particularidade a torna muito importante para várias aplicações biotecnológicas, a exemplo do desenvolvimento de biossensores para carboidratos covalentemente ligados a lipídeos ou proteínas (glicoconjugados), sem esquecer da biocompatibilidade, robustez e capacidade de miniaturização das plataformas de detecção (LUONG, 2008; BARROCAS, 2008).

Os biossensores eletroquímicos são dispositivos analíticos que utilizam um material biológico como interface de biorreconhecimento imobilizado a um transdutor, que converte o processo de interação biológica com o substrato em sinal elétrico, possibilitando o monitoramento desta reação desde baixas concentrações (LIS & SHARON, 1998; THÉVENOT *et al.*, 2001; LANNOO & VAN DAMME, 2010;). Esses dispositivos também são de simples construção, confiáveis, de rápida resposta e custo relativamente baixo (THÉVENOT *et al.*, 2001; VELASCO-GARCIA & MOTTRAM, 2003; HOCEVAR, 2016). As aplicações dos biossensores à base de lectinas podem ser encontradas em diferentes áreas, com destaque para investigações sobre temáticas da área ambiental e medicinal (ZHAO, 2010; NASCIMENTO, 2012; FERNANDES, 2016).

Apesar dos avanços alcançados na área, existem tópicos de investigação que ainda demandam esforço: estudar a variação da atividade das biomoléculas de acordo com a origem da matéria-prima; avaliar diferentes técnicas de detecção, visando a melhora da performance analítica do dispositivo para a análise de carboidratos livres e glicoconjugados; reduzir o custo de produção do dispositivo, sem comprometer a especificidade e sensibilidade analítica.

## **2 OBJETIVO**

Estudar a interação da lectina ConBr com glicose por via eletroquímica, visando o desenvolvimento de um biossensor para a quantificação do carboidrato.

## **3 METODOLOGIA**

A lectina ConBr foi isolada e purificada, seguindo etapas de extração sólido-líquido e purificação cromatográfica comunicadas por Moura (2019). Para a construção do biossensor, utilizou-se um eletrodo de óxido de estanho dopado com índio (ITO) como suporte eletrodico, modificado com poli(azul de metileno) (PAM) por voltametria cíclica (VC; PGSTAT 101, Autolab), usando solução de azul de metileno 0,025 M e tampão fosfato 0,1 M. A lectina foi imobilizada sobre o filme de PAM por imersão do dispositivo na solução

proteica (aproximadamente  $0,2 \text{ mg mL}^{-1}$ ) por 12 horas, resultando no dispositivo de trabalho – ITO/PAM/ConBr. Os ensaios de interação lectina-carboidrato na superfície do eletrodo foram feitos em triplicata, usando VC a  $50 \text{ mV s}^{-1}$  e sulfato de sódio  $0,1 \text{ M}$  como eletrólito. As leituras foram feitas em uma célula eletroquímica de três eletrodos: ITO/PAM/ConBr, eletrodo de referência ( $\text{Ag/AgCl/Cl}^-_{\text{saturado}}$ ) e eletrodo auxiliar (eletrodo de platina).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

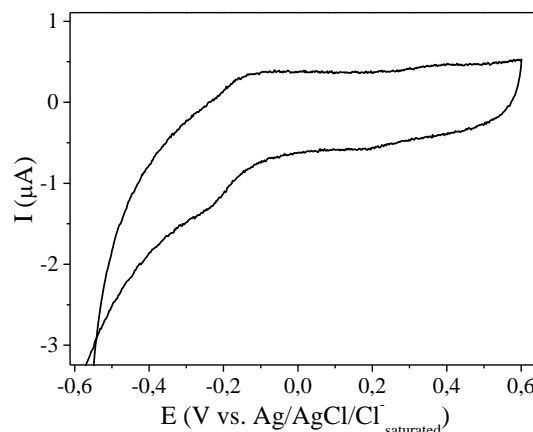
Antes de realizar o processo de modificação do ITO com PAM (Figura 1A), foi estudado o perfil voltamétrico deste eletrodo como forma de verificar as possíveis alterações na interface eletródica após cada etapa de modificação (Figura 1B). A eletrodeposição do filme de PAM ficou evidente mesmo a olho nu, e o perfil voltamétrico característico está ilustrado na Figura 1C. O processo de modificação da superfície eletródica é caracterizado por processos bem característicos de oxidação ( $-0,1 \text{ V}$  e  $-0,07 \text{ V}$ ) e redução ( $-0,2 \text{ V}$ ), que se estabilizam ao longo de 20 ciclos de varredura (Figura 1D).

**Figura 1 - (A)** Aspecto visual do eletrodo de ITO modificado com poli(azul de metileno). Voltamogramas cíclicos registrados para o eletrodo de ITO sem **(B)** e após a modificação com PAM **(C)**, seguido do estudo de estabilidade do dispositivo **(D)**

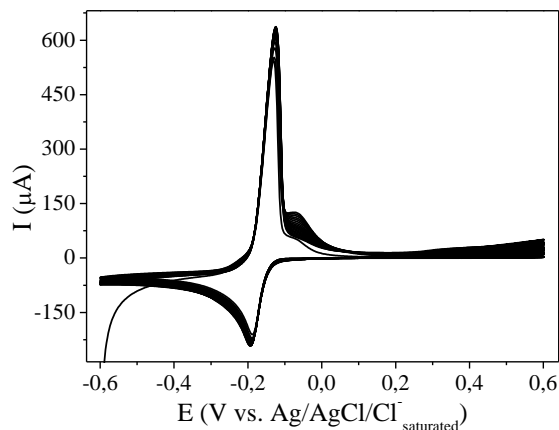
**A)**



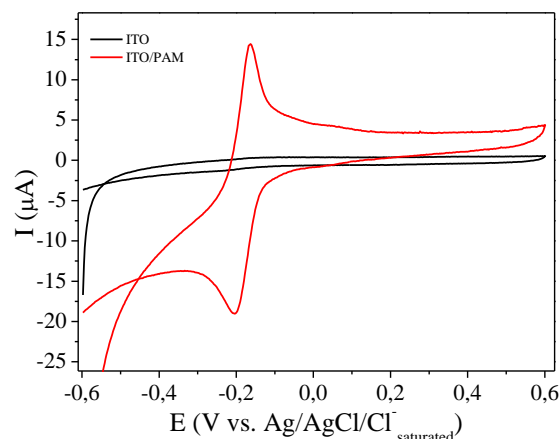
**B)**



**C)**



**D)**

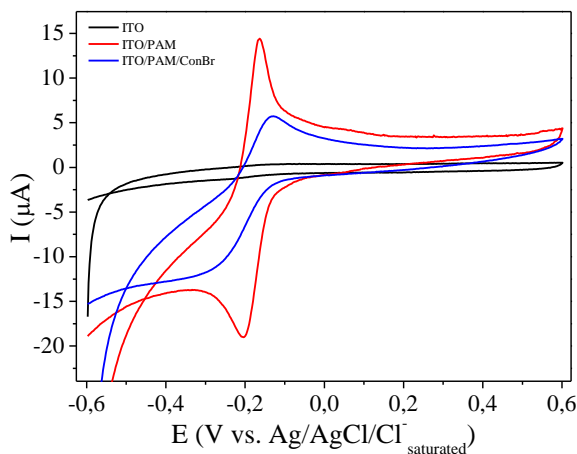


Fonte: Autoria própria.

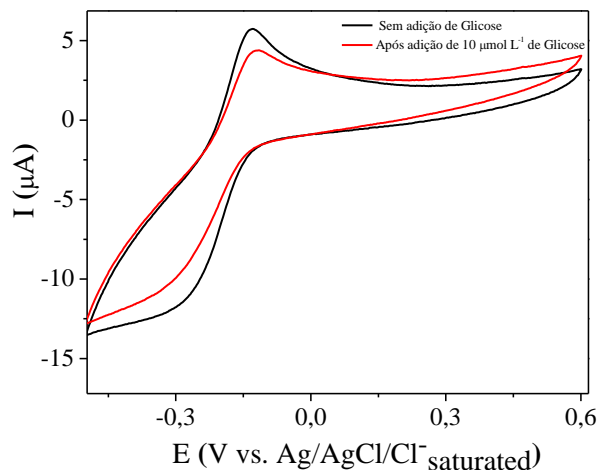
Os voltamogramas do processo de imobilização da lectina e da interação do carboidrato com o biossensor ITO/PAM/ConBr são mostrados na Figura 2. Os resultados revelam uma mudança no perfil voltamétrico após a imobilização da lectina sobre o eletrodo ITO/PAM (Figura 2A), evidenciado com a queda na intensidade do sinal voltamétrico, além de uma maior separação dos picos, em relação ao resultado obtido antes da modificação com a proteína. Isto sugere que a biomolécula interagiu com a superfície ativa do suporte eletródico e o processo de modificação com esta biomolécula foi bem-sucedido, e que houve um aumento na resistência de transferência de carga do dispositivo. Além disso, como os sinais redox do poli(azul de metileno) permanecem evidentes mesmo após a imobilização da lectina, estes mesmos processos podem ser usados para monitorar os eventos de interação da lectina com carboidratos livres e/ou glicoconjugados. Após a adição de glicose, houve a diminuição da intensidade dos picos voltamétricos (Figura 2B), que se intensifica à medida em que a concentração da glicose aumenta ( $1 - 100 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), mostrando que o dispositivo tem potencial para ser utilizado como instrumento analítico no monitoramento de baixas concentrações de glicose. Mais estudos estão sendo realizados para otimizar os parâmetros eletroanalíticos, a fim de aplicar o dispositivo como biossensor eletroquímico para a quantificação de glicose em amostras reais.

**Figura 2 - (A)** Voltamogramas cíclicos registrados nos diferentes estágios de construção do biossensor ITO/PAM/ConBr; **(B)** Voltamogramas cíclicos registrados com o biossensor ITO/PAM/ConBr antes e após adição de  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$  de glicose

**A)**



**B)**



Fonte: Autoria própria.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A eletrodeposição de PAM sobre ITO mostrou-se eficiente para a formação de filmes estáveis do modificador. O eletrodo resultante garante boa aderência e biocompatibilidade para a proteína durante o desenvolvimento do biossensor, permitindo monitorar os eventos de interação ConBr-glicose, mesmo em baixas concentrações. Apesar do caráter preliminar dos resultados, os dados mostram que o biossensor ITO/PAM/ConBr possui grande potencial como instrumento analítico para quantificar glicose em amostras complexas.

## AGRADECIMENTOS

À Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal do Cariri (PRPI/UFCA) e à Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pela concessão de bolsas de iniciação científica, por meio do Edital nº 01/2019-PRPI/UFCA.

## REFERÊNCIAS

- BARROCAS, Paulo Rubens Guimarães *et al.* BIOSSENSORES PARA O MONITORAMENTO DA EXPOSIÇÃO A POLUENTES AMBIENTAIS. **CAD. SAÚDE COLET**, Rio de Janeiro, p. 677 - 700, 8 dez. 2008.
- CAVADA, Benildo Sousa *et al.* Revisiting proteus: Do minor changes in lectin structure matter in biological activity? Lessons from and potencial biotechnological uses of the Diocleinae subtribe lectins. **Current Protein and Peptide Sciences**, v. 2, p. 123-135, 2001.
- MIGUEL, Emilio de Castro *et al.* Seed structure in *Canavalia brasiliensis* Mart. ex Benth. (Leguminosae) and subcellular localization of ConBr lectin: Implications for ConBr biological functions. **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, [s. l.], 2015.
- FERNANDES, Andreia Varmes *et al.* Seeds of Amazonian Fabaceae as a source of new lectins. **Braz. J. Plant Physiol**, v. 23, p. 237-244, 2011.
- FERNANDES, Jessica Colnaghi. **Biossensores de pH, ureia e glicose utilizando a microeletrônica de filmes finos de AZO e TiO<sub>2</sub>**. 2016. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Física Aplicada à Biologia e Medicina) - UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, Ribeirão Preto - SP, 2016.

HOCEVAR, Marcele Arais. **Biossensores estruturados com polímeros condutores para detecção de glicose**. Tese (Doutorado). 147f. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016.

LIS, Halina; SHARON, Nathan. Lectins: carbohydrate-specific proteins that mediate cellular recognition. **Chem. Rev.**, v. 98, p. 637-674, 1998.

LUONG, Jonh; MALE, Keith; GLENNON, Jeremy. Biosensor technology: technology push versus market pull, **Biotechnol. Adv.**, 26 (2008), pp. 492-500.

LANNOO, Nausicaä.; VAN DAMME, Els. Nucleocytoplasmic plant lectins. **Biochemistry and Biophysics Acta**, v.1800, p. 190-201, 2010.

MOREIRA, Renato de Azevedo; CAVADA, Benildo Sousa. Lectin from canavalia brasiliensis (Mart.). Isolation, characterisation and behaviour during germination. **Biol. Plant.** v. 26, p. 113-120, 1984.

MOURA, Rafael Barbosa de. **Avaliação da atividade antibacteriana e modulatória das lectinas de Canavalia ensiformis (ConA) e Canavalia brasiliensis (ConBr)**. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Cariri, 2019.

NASCIMENTO, Raphael Aparecido Sanches. **Análise de procedimentos de medida de dispositivos EGFET utilizando filmes de FTO**. Dissertação (Mestrado) – Mestrado em Física Aplicada a Biologia e Medicina – Departamento de Física, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

POMIN, Vitor Hugo; MOURÃO, Paulo Antônio de Souza. Carboidratos. **Ciência hoje**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 233, 20 dez. 2006. Bioquímica, p. 24-31.

RAMOS, Márcio Viana *et al.* Characterization of the sugar-binding specificity of the toxic lectins isolated from Abrus pulchellus seeds. **Glycoconjugate journal**, v. 18, p. 391-400, 2002.

THÉVENOT, Daniel. *et al.* Electrochemical biosensors: recommended definitions and classifications. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 16, p. 121-131, 2001.

VELASCO-GARCIA, Maria; MOTTRAM, Toby. Biosensor technology addressing agricultural problems. **Biosystems Bioengineering**, v. 84, p. 1-12, 2003.

ZHAO, Rongrong. *et al.* A pH sensor based on the TiO<sub>2</sub> nanotube array modified Ti electrode. **Electrochimica Acta**, v. 55, n. 20, p. 5647-5651, 2010.