

## UTILIZAÇÃO DO LEITE EM PÓ DESNATADO COMO ALTERNATIVA DE PADRÃO DE PESO MOLECULAR PARA DIAGNÓSTICO DA ARTRITE-ENCEFALITE CAPRINA

VANDERLAN WARLINGTON SOUZA DOS SANTOS(1) - APOLIANA DE SOUSA RODRIGUES(2) - ROBERTA LOMONTE LEMOS DE BRITO(3) - JOÃO RICARDO FURTADO(4) - SAMILLY MESQUITA ALVES(5) - RAYMUNDO RIZALDO PINHEIRO(6) -

1. Graduando em Zootecnia - 2. Biológa, Bolsista ATP-CNPq - 3. Médica Veterinária, Bolsista DTI-CNPq - 4. Laboratorista-Embrapa Caprinos e Ovinos - 5. Graduanda em Zootecnia, Bolsista FUNCAP - 6. Médico Veterinário. Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos e Professor do Curso de Zootecnia da UVA. e-mail: rizaldo@cnpq.embrapa.br -

### PALAVRAS-CHAVE

eletroforese, padrão de proteína, SDS-PAGE

### APOIO

EMBRAPA, FUNCAP, BANCO DO NORDESTE DO BRASIL

### INTRODUÇÃO

A eletroforese em gel de poliacrilamida é um método rápido e suficientemente sensível para analisar a composição de misturas protéicas complexas, sendo estas submetidas a um campo elétrico, provocando uma migração das proteínas ao longo do gel, permitindo a identificação de bandas presentes na substância submetida à análise. No entanto, para a mensuração correta dos pesos moleculares, faz-se necessária a utilização de marcadores moleculares contendo proteínas com pesos previamente conhecidos, chamado de " Padrão de Proteína ". Estes por sua vez, possuem preço elevado, o que encarece a técnica laboratorial.

### OBJETIVOS

Avaliar qual das diferentes concentrações de leite em pó desnatado Molico-Nestle® apresenta melhor visualização das bandas protéicas, com intuito de utilizá-lo como marcador de peso molecular para diagnóstico da Artrite-Encefalite Caprina.

### MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram submetidas à eletroforese unidimensional, SDS-PAGE, utilizando mini-gel com 12% de gel de separação e 4% de gel de concentração (LAEMMLI, 1970). Amostras de leite desnatado foram diluídas a: 8,287Mg/ML, 16,58 Mg/ML e 24,87Mg/ML. Como padrão molecular utilizou-se o Benchmark™ Protein Ladder (Envirogen Life Technologies®), com bandas entre 10 e 220 kDa. Em cada poço foi utilizado 15ML de amostra. A separação foi obtida em corrida eletroforética, com corrente elétrica de 40 miliampere, tensão elétrica de 170 volts e potência de 7 watts por, aproximadamente, uma hora e meia. Na coloração do gel foi utilizado o corante Comassie Brilliant Blue R-250 por 2 horas, e em seguida, a descoloração, em solução de metanol a 30% e ácido acético a 7% em água bidestilada por 3 horas, para visualização das bandas. As bandas protéicas foram então analisadas quanto à distribuição e concentração pelo software da Life Science Doc-It®LS 6.0.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise do gel de eletroforese do leite desnatado observou-se a presença de seis bandas de proteínas, com os respectivos pesos moleculares: 16, 30, 32, 57, 68 e 83 kDa. Verificou-se que a concentração 16,58 microgramas/microLitros de leite desnatado foi a de melhor resultado, apresentando bandas nítidas e sem arrasto. Como no diagnóstico da Artrite Encefalite Caprina (CAE) por Western Blot (WB), busca-se anticorpos que reajam com a proteína do vírus que apresenta peso molecular de 28 kDa (HERMANN et al., 2003), a concentração 16,58 microgramas/microLitros do leite desnatado apresenta utilidade para aferição de amostras de pesos moleculares próximos a 30-32 kDa, tornando o leite um potencial padrão de peso molecular no WB com vírus da CAE.

### CONCLUSÕES

O leite em pó desnatado Molico-Nestle® é viável como substituto de marcador de pesos moleculares próximos a 30-32 kDa, podendo ser utilizado no WB para diagnóstico da CAE.

### REFERÊNCIAS

HERMANN, L. M.; et al. Competitive-Inhibition Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Serum Antibodies to Caprine Arthritis Encephalitis Virus: Diagnostic Tool for Successful Eradication. *Cinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, Mar. 2003, p. 267-271

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, v.227, p. 680-685, 1970.