



**Universidade:
presente!**

**UFRGS
PROPESQ**



XXXI SIC

21.25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE MANUSEIO E ARMAZENAMENTO DE ISOLADOS DE VESÍCULAS EXTRACELULARES A PARTIR DO SANGUE

Dessander Garcia Faccin

Orientador: Prof. Dr. Tiago Degani Veit

Departamento de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde/ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

INTRODUÇÃO

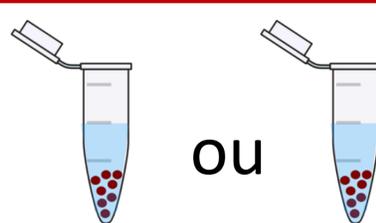
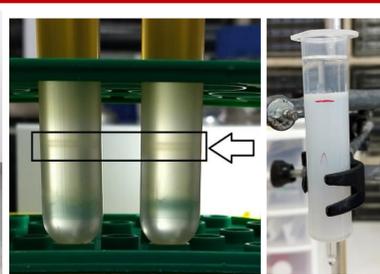
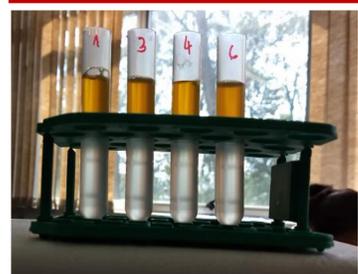
Vesículas extracelulares (VEs) são pequenas estruturas compostas por bicamadas lipídicas, com diâmetro que varia entre 30 e 1000 nanômetros. Dentre os tipos de vesículas extracelulares existentes, os exossomos destacam-se por ser potenciais fontes de biomarcadores proteicos e de ácidos nucleicos (RNAs) para diversos tipos de condições fisiológicas e patológicas. Além do fato de que VEs do plasma sanguíneo são de difícil obtenção, a qualidade da pesquisa de biomarcadores nessas estruturas pode ser grandemente impactada pelas condições de manuseio e armazenamento desses isolados.

OBJETIVO

Avaliar diferentes condições de armazenamento, tratamento e manuseio de isolados de VEs obtidas a partir de plasma sanguíneo humano.

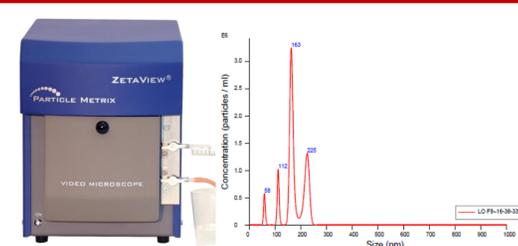
RESULTADOS

Foi observada uma grande diferença na concentração de partículas entre os isolados armazenados em eppendorfs normais e eppendorfs Lobind®, com o segundo tipo de tubo apresentando concentrações 2,13 e 2,31 maiores, em média, para frações obtidas por CET e pelo protocolo combinado, respectivamente. A passagem dos isolados por filtro de 0,22 um não impactou significativamente na concentração e tamanho médio das partículas conforme analisado por NTA.



Tubo comum

Tubo LoBind®



Análise NTA

Figura 1: Fluxograma do Isolamento de VE a partir do plasma até a análise por NTA

METODOLOGIA

Isolados de VEs foram obtidos a partir do plasma humano por um protocolo combinado, envolvendo ultracentrifugação com gradiente de densidade (UC-GD) seguida de cromatografia de exclusão de tamanho (CET). As frações enriquecidas em VEs (7 a 10) foram divididas em duas alíquotas, uma delas estocada em tubo Eppendorf comum e outra em tubo Eppendorf LoBind® e as concentrações de partículas de cada fração foram analisadas por NTA. Também avaliou-se o efeito da filtração em filtro de 0,22 µm na concentração final de partículas das frações isoladas (Figura 1).

CONCLUSÃO

Os nossos dados sugerem que os tubos LoBind® são superiores para o armazenamento de isolados de VEs com baixa concentração de proteína, tais como os obtidos pelas técnicas empregadas pelo nosso grupo. Para os passos seguintes de otimização, estão previstos testes de estabilidade das VEs após ciclos de congelamento/descongelamento e das diferentes variáveis qualitativas associadas ao tratamento das amostras após o descongelamento.