



## Fracionamento do veneno de *Bothrops pubescens* por cromatografia líquida de gel filtração

Andressa Tainara Pilla, discente de graduação, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel

Darlene L. Rangel, aluna de pós graduação, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel

Kimberli O. Moreira, discente de graduação, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel

Pedro Lanzarini de Oliveira, discente de graduação, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel

Evelise Leis Carvalho, aluna de pós graduação, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel

Paulo M. Pinto, docente, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel

Andressapilla.aluno@unipampa.edu.br

A serpente *Bothrops pubescens* é uma espécie endêmica do bioma pampa, popularmente conhecida como jararaca-pintada, pertence ao gênero *Bothrops*, e distribuem-se desde florestas úmidas a regiões semiáridas, possuem comportamento agressivo sendo as principais responsáveis pelos acidentes ofídicos no Rio Grande do Sul. Seu veneno possui ação local, incluindo hemorragia, edema, dor e mionecrose, assim como efeitos sistêmicos como coagulopatias e falha renal, a composição e ação do veneno possui uma grande variação dentro desta espécie, modificando-se dependendo da dieta, localização e sexo do indivíduo. O primeiro passo para a caracterização do veneno por técnicas proteômicas é o fracionamento, uma vez que a amostra de veneno é uma mistura complexa de proteínas. Uma das técnicas utilizada para este processo é a cromatografia líquida de gel filtração, onde as proteínas são separadas de acordo com seu tamanho. Tendo isso em vista, o objetivo deste trabalho foi fracionar o veneno de *B. pubescens* utilizando cromatografia de gel filtração e posterior análise por SDS-PAGE. Para este procedimento foi utilizado uma amostra de veneno cru de *B. pubescens* diluída em acetato de amônia 100 mM e fracionada por gel filtração em uma coluna Yarra 3 µm SEX-300 (300 x 4.6 mm) (Phenomenex) em um sistema Agilent 1100 Series com um fluxo de 0,2 mL/min. A eluição das proteínas foi monitorada a 280 nm utilizando o software Agilent OpenLab e posteriormente as frações foram analisadas por SDS-PAGE. Foram coletadas 13 frações em 25 minutos, advindas da gel filtração, que foram submetidas a eletroforese em gel de poliacrilamida. Foi possível a visualização de proteínas com aproximadamente 100 kDa que correspondem a metaloproteinases de veneno de cobra, serinoproteases a cerca de 40 kDa, próximo a banda de 50 kDa proteínas que correspondem a LAAO e proteínas de aproximadamente 14 kDa que correspondem a lectinas do tipo C. Através do fracionamento do veneno foi possível observar que as principais proteínas

encontradas são serinoproteases e metaloproteinases, implicando que sua ação possui alto potencial inflamatório e hemorrágico. O estudo e caracterização do veneno é de suma importância para o entendimento de suas variações e também na busca de moléculas bioativas.

**Agradecimentos:** CAPES, CNPq, FAPERGS, UNIPAMPA, Northwestern University, Laboratório de Proteômica Aplicada.

**Palavras-chave:** Proteômica; Veneno; Cromatografia líquida de gel filtração.