



## Identificação de uma LAAO em veneno de *Bothrops pubescens*

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

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

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

Carlos Eduardo Leher, 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

[Kimberlimoreira.aluno@unipampa.edu.br](mailto:Kimberlimoreira.aluno@unipampa.edu.br)

A serpente *Bothrops pubescens* (jararaca pintada ou jararaca do pampa), é encontrada na região do Bioma pampa desde o Rio Grande do Sul até o Uruguai. Sua dieta varia entre répteis, anfíbios, mamíferos e aves. O envenenamento por picada de serpentes é um problema de saúde pública, as vítimas de *B. pubescens* apresentam efeitos locais como necrose, mionecrose, insuficiência renal e hemorragia. A composição do veneno também pode variar de acordo com alguns fatores, como, por exemplo, o ambiente, alimentação e etc. Estudos com venenos de serpentes são ideais para termos um amplo conhecimento sobre suas substâncias ativas e também da forma como agem no envenenamento. Neste estudo, tivemos como objetivo a caracterização de uma fração obtida por cromatografia líquida de gel filtração do veneno da *B. pubescens*, utilizando técnicas de espectrometria de massas. A espectrometria de massas é uma técnica analítica de extrema importância em que moléculas de uma amostra são convertidas em íons em fase gasosa, que são posteriormente separados no espectrômetro de massas de acordo com sua razão massa ( $m$ ) sobre a carga ( $z$ ),  $m/z$ . O espectro de massa é um gráfico que mostra a abundância (intensidade) relativa de cada íon que aparece como picos em gráficos com  $m/z$  definidos. O veneno cru de *B. pubescens* (500  $\mu\text{g}$ ) foi diluído em acetato de amônia 100 mM e fracionado por gel filtração em uma coluna Yarra 3  $\mu\text{m}$  SEX-300 (300 x 4.6mm) (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. A fração 5 foi analisada por espectrometria de massas em um Q Exactive™ HF Hybrid Quadrupole-Orbitrap para análise nativa e posteriormente analisada por técnicas de proteômica bottom up para sua

identificação. Com a união destas 3 técnicas conseguimos identificar uma L-aminoácido oxidase (LAAO) de 114 kDa de forma nativa, que após a aplicação de CID se dividiu em dois monômeros de 58 kDa. A LAAO é uma das enzimas encontradas nos venenos de serpentes do gênero *Bothrops* e muitos são os efeitos atribuídos a esta enzima: antimicrobiano, indutor de apoptose, agregação plaquetária, anti-câncer, entre outros. Neste trabalho identificamos e caracterizamos uma LAAO presente no veneno de *B. pubescens*. Estudos dessa natureza são importantes para um melhor entendimento de como as moléculas do veneno se apresentam e agem. Palavras chave: proteômica, serpente, veneno, enzima.

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

**Palavras-chave:** Enzima, Veneno, Envenenamento.