

PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA PARCIAL DO COMPLEXO PROTEÍCO PRESENTE NO SORO DE *Didelphis marsupialis* COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIOFÍDICA

SILVA, Tainara Maiane Rodrigues¹

LACERDA, Ivan Moiseiev Pinho²

SOUSA, Rafaela Diniz³

KAYANO, Anderson Makoto⁴

SOARES, Andreimar Martins⁵

Resumo

Os animais do gênero *Didelphis*, popularmente conhecidos como gambás ou mucuras, apresentam resistência natural contravenenos ofídicos, que pode ser atribuída a duas proteínas anti-hemorrágicas: DM40 e DM43. Este trabalho teve por objetivo purificar e caracterizar parcialmente o complexo proteico DM40 e DM43 a partir do soro de *Didelphis marsupialis*. Para o fracionamento, 3 mL do soro foram aplicados na coluna de troca aniônica, resultando na eluição de 7 frações (F1 a F7). Posteriormente, as frações obtidas foram submetidas a SDS-PAGE 12%, sendo detectadas na fração F7, proteínas com massas moleculares aparentes semelhantes as proteínas de interesse: 40 e 43 kDa. Por seguinte, utilizando uma fosfolipase do veneno de *Bothrops jararacussu* (denominada BthTX-II) e 4N3OBA como substrato, foi avaliado o potencial de inibição de atividade fosfolipásica das 7 frações, onde demonstrou-se que todas as frações advindas da cromatografia foram capazes de inibir a atividade enzimática da BthTX-II. Posteriormente, avaliou-se a atividade inibitória dessas frações sobre proteases do veneno de *B. jararacussu* (MP-I) pela atividade proteolítica com caseína, na qual somente a fração F7 foi capaz de inibir a protease. Na recromatografia da fração F7 em coluna de interação hidrofóbica, foram obtidas outras 7 frações (B1-B7), as mesmas, foram analisadas em SDS-PAGE 12%, e o perfil eletroforético demonstrou a presença de proteínas com massas moleculares próximas a 40 e 43 kDa nas frações B3 a B6. Foi avaliada a capacidade inibitória da atividade proteolítica sobre a caseína, demonstrando uma eficiente inibição da atividade das frações B3 e B4 sobre a MP-I. A fração B4 foi submetida a espectrometria de massa, e apresentou proteínas com massas moleculares de 11, 41 e 43 kDa. Posteriormente, a fração B4 foi recromatografada em coluna de fase reversa, resultando em 3 frações (C1-C3), que foram analisadas em SDS-PAGE 12%, demonstrando um alto grau de pureza nas frações C1 e C2. Estas frações foram submetidas a novos testes para avaliar a capacidade de inibir a atividade proteolítica sobre a caseína, onde foi possível observar uma inibição significativa da C1 e C2. Neste trabalho foi possível identificar e caracterizar parcialmente as proteínas do complexo com atividade inibitória de MP-I e BthTX-II, que apresentam atividades e características bioquímicas semelhantes a inibidores de venenos ofídicos descritos para essas espécies.

Palavra-Chave: Atividade antiofídica. *Didelphis marsupialis*. *Bothrops jararacu*

¹Graduanda do curso de Biomedicina do Centro Universitário São Lucas. Email: tainara.maiane.tm@gmail.com

²Graduando do curso de Biomedicina do Centro Universitário São Lucas. Email: moizeiev_@hotmail.com

³Doutoranda em Biologia Experimental pela Universidade Federal de Rondônia. Email: raf.diniz@gmail.com

⁴Doutor em Biologia Experimental pela Universidade Federal de Rondônia. Email: akayano@gmail.com

⁵Doutor em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de São Paulo. Email: andreimarsoares@gmail.com