

**FRACIONAMENTO DO VENENO DE *B. brazili* E IDENTIFICAÇÃO DE
UMA PLA₂ ENZIMATICAMENTE ATIVA**

CARVALHO, Dhilly Almeida de^{1,2}; **FARIAS, Mateus, Souza**^{1,2}; **SIQUEIRA, Claudia,
Oliveira**¹. **MARTINS, Andrei, Soares**^{1,2} **CALDERON, Leonardo de Azevedo**¹

¹ Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde, CEBio, FIOCRUZ Rondônia.

² Centro Universitário São Lucas, UniSL.

INTRODUÇÃO: Os venenos de serpentes possuem cerca de 90% do peso seco em proteínas que são responsáveis por efeitos locais e sistêmicos do envenenamento, sendo que as fosfolipases A₂ (PLA₂) podem representar de 30-60% das enzimas encontradas no veneno de algumas espécies. Essas moléculas foram encontradas também no veneno de *B. brazili*, no entanto, existem poucos estudos relatando a caracterização dessas fosfolipases.

Objetivo: Por esse motivo, este trabalho teve como objetivo isolar uma fosfolipase A₂ (PLA₂) do veneno da serpente *Bothrops Brazili* para posterior caracterização biológica. **Metodologia:** O procedimento de fracionamento foi realizado por meio de cromatografia utilizando uma coluna de gel filtração Superdex G75. As frações obtidas foram submetidas a processo de rotaevaporação, ressuspendidas em H₂O Milli-Q e quantificadas pelo método DC protein. Em seguida, todas as frações foram analisadas por eletroforese monodimensional SDS-PAGE 12,5% e posteriormente testadas quanto à atividade fosfolipásica utilizando como substrato o ácido 4-nitro-octanoiloxibenzóico (4N3OBA). A fração ativa para atividade fosfolipásica foi aplicada a cromatografia de fase reversa em coluna C18 Discovery para obtenção da molécula isolada. **Resultado:** No processo de fracionamento por Gel filtração, foram obtidas oito frações nomeadas de F1 a F8. O perfil eletroforético demonstrou bandas com padrão de peso molecular semelhantes às PLA₂ descritas para venenos de serpentes. A fração F3 demonstrou-se enzimaticamente ativa quando testada frente ao substrato 4N3OBA. Uma PLA₂ com atividade semelhante à Asp-49 foi obtida a partir da fração F3 por meio de cromatografia de fase reversa. **Discussão:** Embora existam poucos estudos descrevendo o perfil venômico de *B. brazili*, a literatura relata uma PLA₂ Asp-49 obtida a partir do veneno dessa espécie com capacidade anti agregação plaquetária. **Conclusão:** Com os resultados obtidos até o momento, é possível concluir que o veneno de *B. brazili* possui uma PLA₂ enzimaticamente ativa que pode ser isolada pela combinação de cromatografia de gel filtração seguida de cromatografia de fase reversa. A molécula obtida foi liofilizada e armazenada para posterior caracterização biológica.

Agradecimentos: CEBio; UNIR; UniSL.

PALAVRA CHAVE: Venenos de Serpentes, *Bothrops brazili*, fosfolipase A₂
Email: Dhillycarvalho@gmail.com.