



XXVII Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CA-047 (ID: 2455)

Autor: Bustos, Maria Lucia

Título: Análisis comparativo del perfil proteico del veneno de ejemplares adultos y neonatos de yarará (Bothrops spp) por SDS-PAGE

Director: Teibler, Gladys Pamela

Co-Director: Sanchez, Matias Nicolas

Palabras clave: Variaciones Ontogénicas, Antivenenos, Metaloprotininas

Área de Beca: Cs. Agropecuarias

Tipo Beca: Cyt - Iniciacion

Periodo: 01/03/2021 al 01/03/2024

Lugar de trabajo: Facultad De Cs. Veterinarias

Proyecto: (17B017) Estudio bioquímico y de toxicidad del veneno de serpientes, en estado juvenil, de la familia viperidae, género bothrops de la región del NEA.

Resumen:

Numerosos trabajos científicos demuestran que existen variaciones ontogénicas en las características bioquímicas de los venenos de serpientes. Resulta importante conocer estas variaciones para el diseño de protocolos de inmunización destinados a producir antivenenos más eficaces, dado que los mismos se preparan generalmente con un pool de veneno de ejemplares adultos. Hasta el momento, las variaciones ontogénicas de los venenos de especies de Bothrops del Noreste Argentino (NEA) no han sido estudiadas, por lo que es necesario iniciar el abordaje de esta cuestión. Fue nuestro objetivo por lo tanto, realizar un análisis comparativo preliminar de la composición proteica de los venenos de ejemplares recién nacidos (neonatos) y adultos de Bothrops alternatus "yarará grande" y Bothrops diporus "yarará chica" mediante electroforesis con geles de poliacrilamida (PAGE = polyacrylamide gel electrophoresis) en presencia del detergente aniónico dodecilsulfato sódico (SDS), SDS-PAGE. Ejemplares neonatos de B. alternatus y B. diporus de 3 días de nacidos y adultos de 2 a 4 años de edad, todos en cautiverio, fueron manipulados para extraer veneno, utilizando capilares de vidrio y masajeando las glándulas suavemente en el caso de los neonatos y en frascos para los ejemplares adultos. Los venenos obtenidos fueron desecados y conservados a -20 °C hasta su utilización. Se realizó electroforesis en gel de poliacrilamida, en condiciones desnaturizantes para la investigación del perfil proteico de los venenos, utilizando gel de separación al 12% y gel de stacking al 4%. Se utilizaron patrones de baja masa molecular (MM), (Bio-rad), preparados según indicaciones del fabricante. Para la preparación de las muestras se pesaron 0,5 mg de cada veneno en balanza analítica y se disolvió en 150 uL de buffer muestra (Laemmli sample buffer Bio-rad) y 7,5 uL de mercaptoetanol, desnaturizando las muestras a 100 °C durante 5 minutos. Se sembraron 5 uL de cada uno en las calles del gel, y 5 uL de patrones de MM (fosforilasa B 97,4 KDa, albumina sérica 66,2 KDa, ovoalbúmina 45 KDa, anhidrasa carbónica 31 KDa, inhibidor de tripsina 21,5 KDa y lisozima 14,4 KDa). Se utilizó un equipo Mini Protean Tetra Cell (Bio-Rad), manteniendo constante el amperaje en 20 mA por gel durante 50 minutos. El gel se coloreó con azul de Coomassie para la visualización de las bandas y se decoloró con solución de ácido acético/metanol. Se registraron los perfiles por fotografía, y posteriormente se construyeron tablas de logaritmo de masa molecular de los patrones en función de la distancia recorrida, con lo cual se construye una curva y a partir de ella, con las distancias de cada proteína se calcula la MM de las proteínas presente en el veneno. Se pudo observar que los venenos de los ejemplares adultos y neonatos poseen diferente composición proteica, notándose 16 bandas proteicas en neonatos de B. diporus contra 8 bandas en los adultos, y respecto a B. alternatus, 14 bandas en neonatos y 8 en adultos. El análisis de las masas moleculares de las bandas de proteínas teniendo en cuenta la MM y la migración de los patrones, permitió evidenciar la presencia de diferencias entre los venenos. Podemos concluir, que existen variaciones ontogénicas importantes, debiéndose estudiar en profundidad como afecta a las propiedades biológicas e inmunológicas de los venenos utilizados para la producción de antivenenos.