

020

PURIFICAÇÃO DE UMA CININASE DA TATURANA LONOMIA OBLIQUA. *Claudio Bezerra Bohrer, Antônio Frederico M. Pinto, Michele Bastiani, Carlos Termignoni, Jorge Almeida Guimaraes (orient.)* (Departamento de Biologia Molecular e Biotecnologia, Instituto de Biociências, UFRGS).

O envenenamento causado pelas pessoas que estiveram em contato com a taturana *Lonomia obliqua* é caracterizado por hemorragia central e periférica, coagulopatia intravascular disseminada, hipotensão e insuficiência renal aguda, o que sugere ativação dos sistemas contato e caliceína-cinina, através da liberação de bradicinina (Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg) do cininogênio plasmático por caliceína. A bradicinina (BK) exerce efeitos pró-inflamatório e edematogênico. Foram, previamente, encontrados na secreção de estresse-térmico de *L. obliqua* atividades semelhantes a cininas, atividade sobre H-D-Pro-Phe-Arg-paranitroanilida (substrato de caliceína) e atividade cininásica. A purificação da atividade cininásica foi obtida por cromatografia de troca-iônica em MonoQ (coluna equilibrada em tampão Hepes 20 mM, pH 7, 4 e eluída com um gradiente linear de NaCl). Essa etapa foi seguida de uma cromatografia de gel-filtração em Superose 12 e mais uma vez em cromatografia de troca-iônica usando MonoQ. A atividade cininásica foi monitorada por (i) ensaio fluorimétrico usando bradicinina marcada com grupos fluorogênicos (Abz-BKQ-EDDnp), (ii) ensaios biológicos com óleo isolado de cobaia e (iii) eletroforese capilar. A atividade específica da enzima purificada aumentou 117 vezes (132, 27 ng BK/min/μg proteína). A enzima apresentou um peso molecular na faixa de 100-110 KDa, determinado por SDS-PAGE e por cromatografia de gel-filtração. A enzima purificada foi totalmente inibida por EDTA (5 mM) e captopril (2 μM), demonstrando ser uma metaloprotease semelhante às cininases humanas. Esses achados são compatíveis com o quadro clínico observado nas pessoas acidentadas pelo contato com a taturana *L. obliqua*. (CNPq-Proj. Integrado).