



4to COLOQUIO EN BIOCIENCIAS, 2024

POTENCIAL PROTEOLÍTICO, HEMOLÍTICO E IDENTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS DE LAS FRACCIONES CROMATOGRÁFICAS DEL VENENO DE *CROTALUS MOLOSSUS*

Hernández Acosta Raúl Antonio, Huerta Ocampo José Ángel, Muhlia Almazán Adriana Teresita, Guzmán Partida Ana María, Bojórquez Velázquez Esaú, Jiménez Canale Jorge, Espinosa Plascencia Angélica. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Instituto de Ecología, A.C., Universidad de Sonora
Rhernandez122@estudiantes.ciad.mx

Resumen

Crotalus molossus (serpiente de cascabel cola negra norteña) se considera como especie de importancia médica. Su veneno se ha reportado con una pronunciada actividad hemorrágica y necrótica, así como citotóxica sobre células de carcinoma mamario ductal infiltrante, T-47D. El objetivo de esta investigación fue evaluar las actividades proteolítica, hemolítica y coagulante de las proteínas del veneno de *C. molossus* separadas mediante técnicas cromatográficas. Se cuantificó el contenido de proteína de *C. molossus* y se fraccionó mediante cromatografía de intercambio catiónico. Las proteínas del veneno total y las fracciones obtenidas se analizaron por SDS-PAGE. Se determinaron: las unidades de hemólisis directa, la dosis coagulante mínima y las unidades de actividad proteolítica, tanto del veneno total como de las fracciones cromatográficas. También se evaluaron la actividad proteolítica del veneno total y de las fracciones cromatográficas en gel de poliacrilamida usando caseína bovina como sustrato modelo. El veneno total mostró 16.7 unidades de hemólisis directa, esta actividad hemolítica fue superior al efecto individual de sus fracciones y es similar a la actividad reportada en otras especies del mismo género, mientras que la fracción no retenida no presentó actividad hemolítica después de 24 h. El veneno total mostró baja actividad coagulante requiriéndose 86.2 µg de veneno para coagular el plasma al minuto, mientras que la fracción 1 (NaOAc 0.25 M) presentó una dosis coagulante mínima de 13.4 µg y la fracción no retenida no formó coágulos después de 24 h. La actividad proteolítica del veneno total (120.7 U/mg) fue superior a las reportadas para otras especies del género *Crotalus*. Además, la actividad proteolítica evaluada en gel a las 3 h mostró que las fracciones 3 y 4 (NaOAc 0.5 y 2 M, respectivamente) tuvieron actividad proteolítica similar a la del veneno total. En conclusión, el veneno total de *C. molossus* presenta una baja actividad coagulante y



hemolítica, pudiendo presentar inhibidores de estas actividades y una alta actividad proteolítica.

PROTEOLYTIC, HEMOLYTIC POTENTIAL AND PROTEIN IDENTIFICATION OF CHROMATOGRAPHIC FRACTIONS OF CROTALUS MOLOSSUS VENOM

Abstract

Crotalus molossus (northern black-tailed rattlesnake) is considered a species of medical importance. Its venom has been reported to have pronounced hemorrhagic and necrotic activity, as well as cytotoxic activity on infiltrating ductal mammary carcinoma cells, T-47D. The objective of this research was to evaluate the proteolytic, hemolytic and coagulant activities of *C. molossus* venom proteins separated by chromatographic techniques. The protein content of *C. molossus* was quantified and fractionated by cation exchange chromatography. The proteins of the total venom and the fractions obtained were analyzed by SDS-PAGE. The following were determined: the direct hemolysis units, the minimum coagulant dose and the proteolytic activity units, both total venom and of the chromatographic fractions. The proteolytic activity of total venom and polyacrylamide gel chromatographic fractions was also evaluated using bovine casein as a model substrate. Total venom showed 16.7 direct hemolytic units, this hemolytic activity was higher than the individual effect of its fractions and is similar to the activity reported in other species of the same genus, while the non-retained fraction did not present hemolytic activity after 24 h. Total venom showed low coagulant activity requiring 86.2 μg of venom to coagulate plasma at 1 minute, while fraction 1 (0.25 M NaOAc) presented a minimum coagulant dose of 13.4 μg and the non-retained fraction did not form clots after 24 h. The proteolytic activity of total venom (120.7 U/mg) was higher than those reported for other species of the *Crotalus* genus. Furthermore, proteolytic activity evaluated in gel at 3 h showed that fractions 3 and 4 (0.5 and 2 M NaOAc, respectively) had proteolytic activity like that of total venom. In conclusion, total venom of *C. molossus* presents a low coagulant and hemolytic activity and may present inhibitors of these activities and a high proteolytic activity.