



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Académico Profesional de Genética y Biotecnología

**Purificación y caracterización de una lectina tipo C del
veneno de la serpiente peruana Lachesis muta
"Shushupe"**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Bióloga Genetista
Biotecnóloga

AUTOR

Mercedes del Pilar PALOMINO GARCÍA

ASESOR

Fanny Elizabeth LAZO MANRIQUE

Lima, Perú

2011

RESUMEN

En el presente trabajo, se ha purificado la lectina verdadera aislada del veneno de *Lachesis muta* y se han determinado sus propiedades bioquímicas y biológicas. La purificación se logró utilizando como único paso cromatográfico una columna de DEAE-Sephadex A-50. La proteína no enzimática fue reconocida debido a su capacidad para aglutinar glóbulos rojos humanos. La purificación obtenida fue de 3,6 veces y la lectina representó el 3,5 % respecto a la proteína total. El análisis por PAGE-SDS, demostró que la lectina de *L. muta* tiene un peso molecular de 27,5 kDa en su forma dimérica y 14,3 kDa en su forma monomérica. La lectina tuvo mayor afinidad por la lactosa, seguida de galactosa, arabinosa, sacarosa y glucosa. Por otro lado, no puede reconocer residuos de maltosa, manosa ni fructosa. La lectina de *L. muta* ha sido clasificada dentro de las lectinas tipo C debido a que fue inhibida por EDTA, DTT y 2 β -ME y la inhibición causada por 0,125 - 0,5 mM de EDTA fue anulada por los iones calcio, magnesio y manganeso. Se trata de una proteína estable al pH y a la temperatura, ya que se une a los glóbulos rojos a diferentes valores de pH (4 a 9) y tolera temperatura desde 30 hasta 70 °C. Por último, se trata de un componente no tóxico para ratones albinos, no interviene en la coagulación sanguínea pero es reconocida por el antiveneno lachésico monovalente (INS, Lima-Perú) y por lo tanto, antigénica.

Palabras claves: Lectina tipo C, *Lachesis muta*, veneno, hemoaglutinación, lactosa.

ABSTRACT

The present investigation is about the *Lachesis muta* venom true lectin . It has been purified and its biochemical and biological properties determined. The purification was accomplished using as only chromatographic step a DEAE-Sephadex A-50. This non-enzymatic protein was recognized relying on its ability of agglutinating human red cells. The purification obtained was 3,6 fold and the lectin represented 3,5 % of the total protein. SDS-PAGE analysis show that *L.muta* lectin has 27,5 kDa of molecular weight in its dimeric form and 14,3 kDa in its monomeric form. The lectin has more affinity for lactose than galactose, arabinose, saccharose and glucose. On the other hand, it cannot recognize residues of maltose, mannose nor fructose. The *Lachesis muta* lectin has been classified within the C-type Lectins because it was inhibited by EDTA, DTT and 2 β -ME and the inhibition caused by 0,125 - 0,5 mM of EDTA was annulled under the presence of calcium, magnesium and manganese ions. It is a pH and temperature stable protein. The lectin recognizes the red cells from pH 4 to 9 and since 30 until 70 °C. Finally, this lectin in a non toxic component, it does not interfere with blood coagulation but is recognized by the monovalent lachestic antivenom (INS, Lima-Peru) and therefore, antigenic.

Keywords: C-type lectin, *Lachesis muta*, venom, hemoagglutination, lactose.