

206

NP₉₀₋₁₁₀ É O PEPTÍDEO RESPONSÁVEL PELA ATIVIDADE ANTI-COAGULANTE DA NITROFORINA 2. Antônio F. M. Pinto¹, Maria Juliano², Jorge A. Guimarães¹ (¹Departamento de Biotecnologia, IB, UFRGS e ² Departamento de Biofísica, UNIFESP).

Durante o processo evolutivo, o *Rhodnius prolixus* e outros triatomíneos transmissores do *T. cruzi*, o agente da doença de Chagas, desenvolveram um eficiente processo de produção salivar de princípios anti-hemostáticos. A Nitroforina 2 (NP, sequência a seguir), é uma proteína de 19,7 Kda, com potente atividade anti-coagulante (Ribeiro, Schneider and Guimarães, 1995. *Biochem. J.* 307: 243-249). DCSTNISPQK GLDKAKYFSG KQYVTHFLDK DPQVTDQYCS SFTPRES DGT VKEALYHYNA NKKTSFYNI G EGKLESSGLQ YTAKYKTVDK KKAVLKEADE KNSYTLTVLE ADDSSALVHI CLREGSKDLG DLYTVLTHQK DAEPSAKVKS AVTQAGLQLS QFVGTKDLGC DYDDQFTSL* No presente trabalho buscamos identificar a região peptídica responsável por esta atividade. Os peptídeos com 20 aminoácidos, sintetizados mantendo uma sobreposição de 10 resíduos (NP₁₀₋₃₀, NP₂₀₋₄₀, NP₃₀₋₅₀, NP₄₀₋₆₀, NP₅₁₋₇₀, NP₆₀₋₈₀, NP₇₀₋₉₀, NP₈₀₋₁₀₀, NP₉₀₋₁₁₀, NP₁₀₀₋₁₂₀, NP₁₁₀₋₁₃₀, NP₁₂₂₋₁₄₀, NP₁₃₀₋₁₅₀, NP₁₄₀₋₁₆₀, NP₁₅₀₋₁₆₉, NP₁₆₀₋₁₇₉), foram ensaiados no teste de coagulação (tempo de recalcificação). Utilizou-se um ensaio tipo ELISA no equipamento SpectraMAX (Molecular Devices) equipado com um software para leituras simultâneas da cinética de coagulação em até 96 amostras lidas em 650 nm. Os peptídeos foram incubadas com 30 ul de plasma humano citratado, diluído em tampão Tris-HCl 20mM, pH 7,4, num volume final de 130 ul. Após pré-incubação a 37°C, foram adicionados 20 ul de CaCl₂ 50mM. A atividade anti-coagulante foi identificada somente na sétima amostra, NP₉₀₋₁₁₀ (K KKAVLKEADE KNSYTLTVLE), indicando ser esta a região da sequência da NP2 responsável pela potente ação anti-coagulante da saliva do *R. prolixus*. (CNPq, FAPERGS).