



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Perfil de inibição enzimática e localização tecidual de uma cistatina do carrapato <i>Rhipicephalus appendiculatus</i>
Autor	CAROLINA KONRDÖRFER RANGEL
Orientador	ITABAJARA DA SILVA VAZ JUNIOR

Perfil de inibição enzimática e localização tecidual de uma cistatina do carrapato *Rhipicephalus appendiculatus*

Konrdörfer, C.R.¹; da Silva Vaz Jr I.^{1,2,3}

¹ Centro de Biotecnologia, UFRGS, RS, Brasil;² Faculdade de Veterinária, UFRGS, RS, Brasil;³ Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular, Brasil

Cistatinas são inibidores de cisteíno peptidases, responsáveis por inibir a atividade de catepsinas envolvidas em processos fisiológicos como digestão, resposta imune e coagulação sanguínea. As cistatinas estão presentes na saliva de carrapatos e estão relacionadas com a fixação do parasita ao hospedeiro, auxiliando no processo de alimentação. Entretanto, o papel fisiológico das cistatinas do carrapato *Rhipicephalus appendiculatus*, um parasita que causa grandes prejuízos econômicos na pecuária africana, ainda é desconhecido. O objetivo deste trabalho foi estudar o perfil inibitório de uma cistatina de *R. appendiculatus* (QnRacys2a) sobre diversas enzimas. Também analisamos a presença de cistatinas em diferentes tecidos de *R. appendiculatus* e *Rhipicephalus microplus*. A QnRacys2a foi expressa em *Escherichia coli* cepa BL21(DE3)pLysS e posteriormente purificada por cromatografia de afinidade. Ensaio enzimáticos foram realizados para avaliar o perfil inibitório da rQnRacys2a para catepsina C bovina e α -quimotripsina, uma serino protease. A imunização com a proteína recombinante foi realizada em coelho e o soro anti-rQnRacys2a foi utilizado em western blot para determinar a localização de cistatinas nos tecidos de *R. appendiculatus* (larva, ninfa e glândula salivar, intestino e ovário de partenógina e teleógina; glândula salivar e intestino de macho e hemolinfa de teleógina) e em tecidos de *R. microplus* (ovo, larva, ninfa, macho e hemolinfa de teleógina, intestino, glândula salivar e ovário de teleógina e partenógina). A rQnRacys2a inibiu a atividade da catepsina C com um K_i de 90,9 nM +/- 15,7 nM. Confirmando a especificidade da atividade inibitória, não houve inibição da serino protease α -quimotripsina. A presença de QnRacys2a foi detectada em larva e adulto não alimentado de *R. appendiculatus*. Em *R. microplus*, proteínas similares a QnRacys2a foram detectadas em intestino de teleógina e ninfa alimentada. De acordo com os resultados obtidos foi possível concluir que QnRacys2a é um inibidor de cisteíno peptidases e não é inibidor de serino proteases, característico de cistatinas. A presença de QnRacys2a e de outras cistatinas em diferentes estágios de vida dos carrapatos *R. appendiculatus* e *R. microplus* necessita de estudo para entender-se o papel desses inibidores na fisiologia desses parasitas. A antigenicidade cruzada entre rQnRacys2a e cistatinas de *R. microplus* sugere a possibilidade de utilização dessa proteína como alvo para uma vacina multi-espécie. O perfil inibitório de rQnRacys2a contra catepsinas B e L e o efeito dos anticorpos anti-rQnRacys2a na capacidade inibitória da cistatina estão em avaliação, assim como ensaios de imunolocalização com células embrionárias de *R. microplus* (BME26) utilizando soro anti-rQnRacys2a.

Agradecimentos: FINEP, CAPES, CNPq, FAPERJ, FAPERGS e INCT-Entomologia Molecular (Brasil) e MEXT (Japão).