



Proteases intestinais de *Anticarsia gemmatalis* e suas ligações a inibidores de proteases

Neilier Rodrigues da Silva Junior¹ (neilier.junior@ufv.br); Maria Goreti de Almeida Oliveira¹ (malmeida@ufv.br); Yaremis Meriño Cabrera¹ (yaremismc@gmail.com); Rafael de Almeida Barros¹ (rafael.barros@ufv.br); Halina Schultz² (halina.schultz@ufv.br); Rafael Júnior de Andrade¹ (rafael.j.andrade@ufv.br)

¹Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil

²Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil

Grande área: ciências biológicas e da saúde; área temática: bioquímica

Palavras-chave: enzimologia, proteômica, interação planta-praga

Introdução

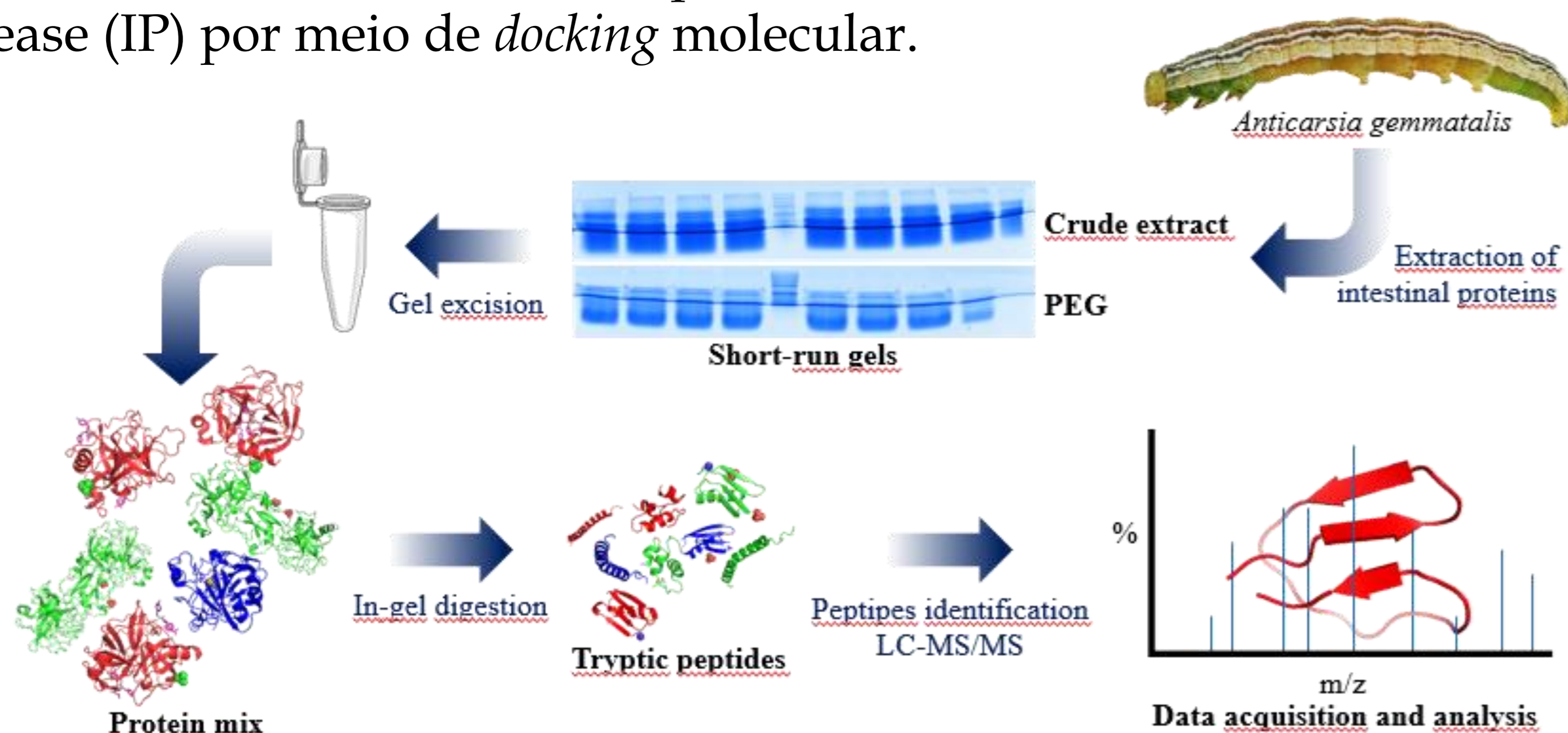
A soja é um dos principais produtos agrícolas do mundo, com fundamental importância para a economia brasileira. Sua produtividade é limitada pela presença de pragas como a lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis*). Considerada um dos principais problemas dessa cultura, a *A. gemmatalis* é um inseto que causa grandes prejuízos devido à severa herbivoria durante sua fase larval. Embora a importância das hidrolases intestinais seja reconhecida, há poucas informações sobre o proteoma intestinal dessa lepidóptera.

Objetivos

Este trabalho teve como objetivo identificar e descrever as proteases do intestino de *A. gemmatalis*.

Material e Métodos

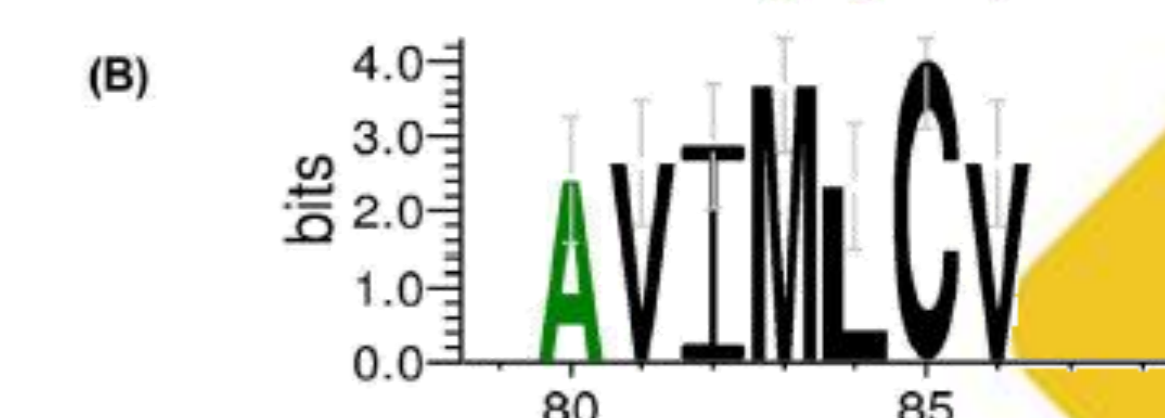
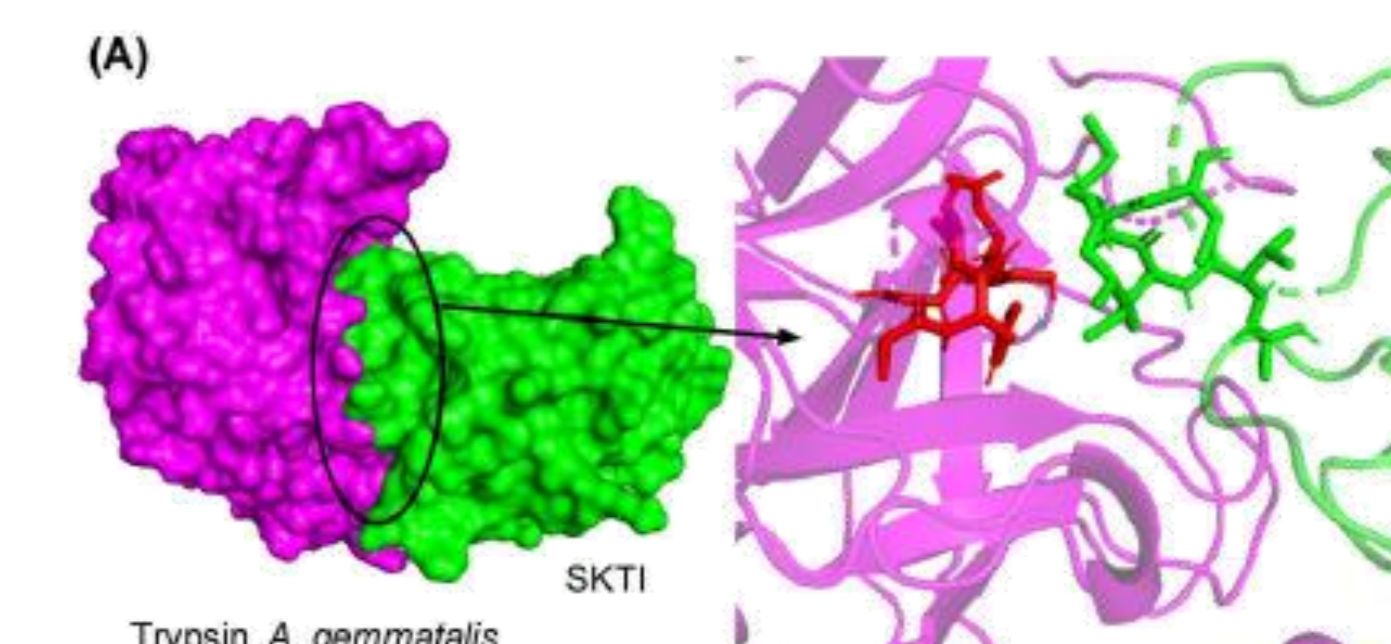
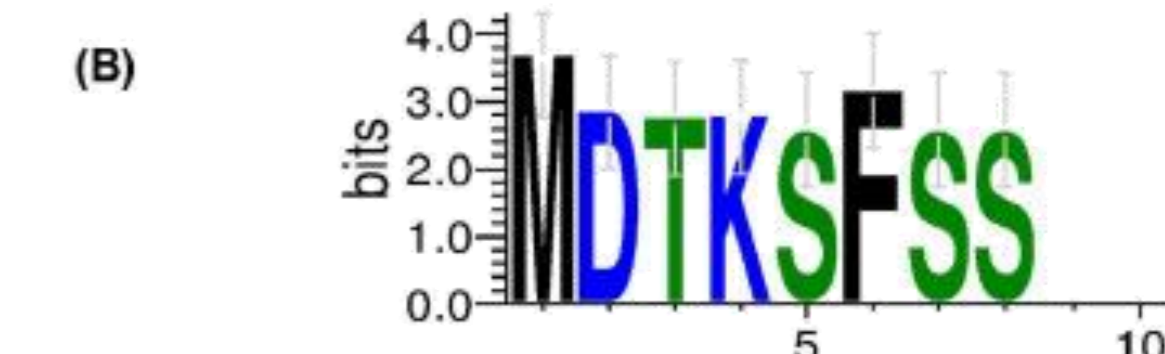
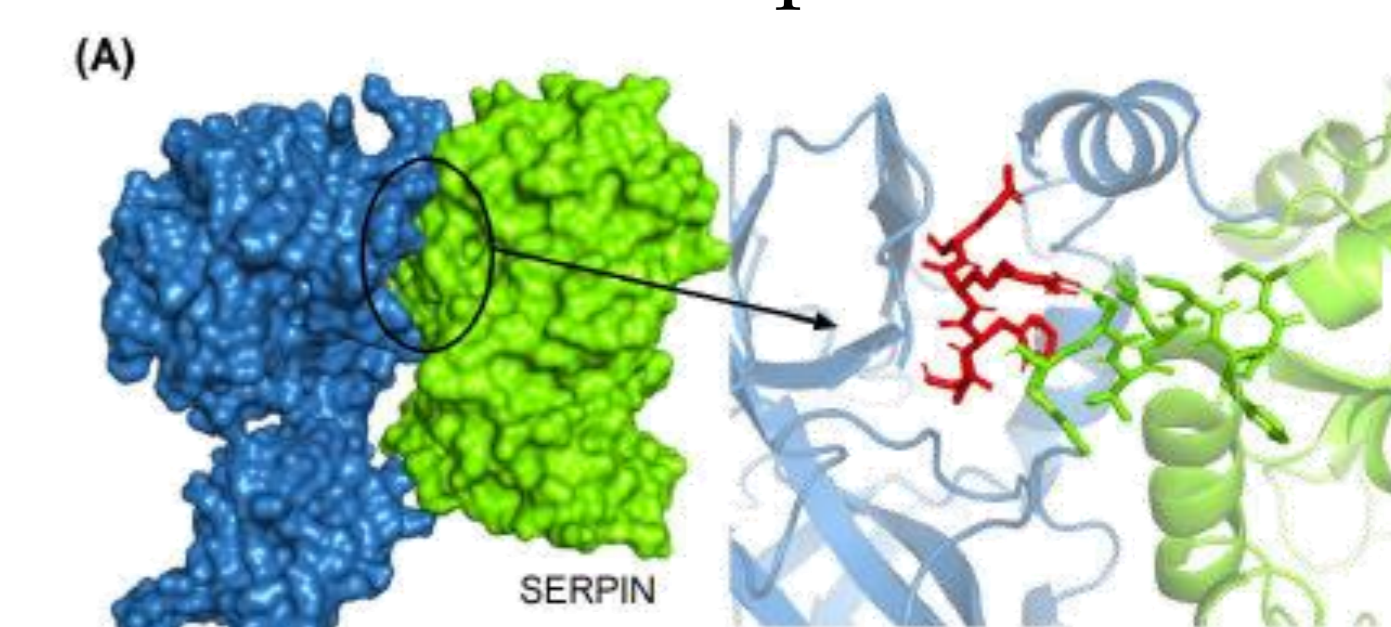
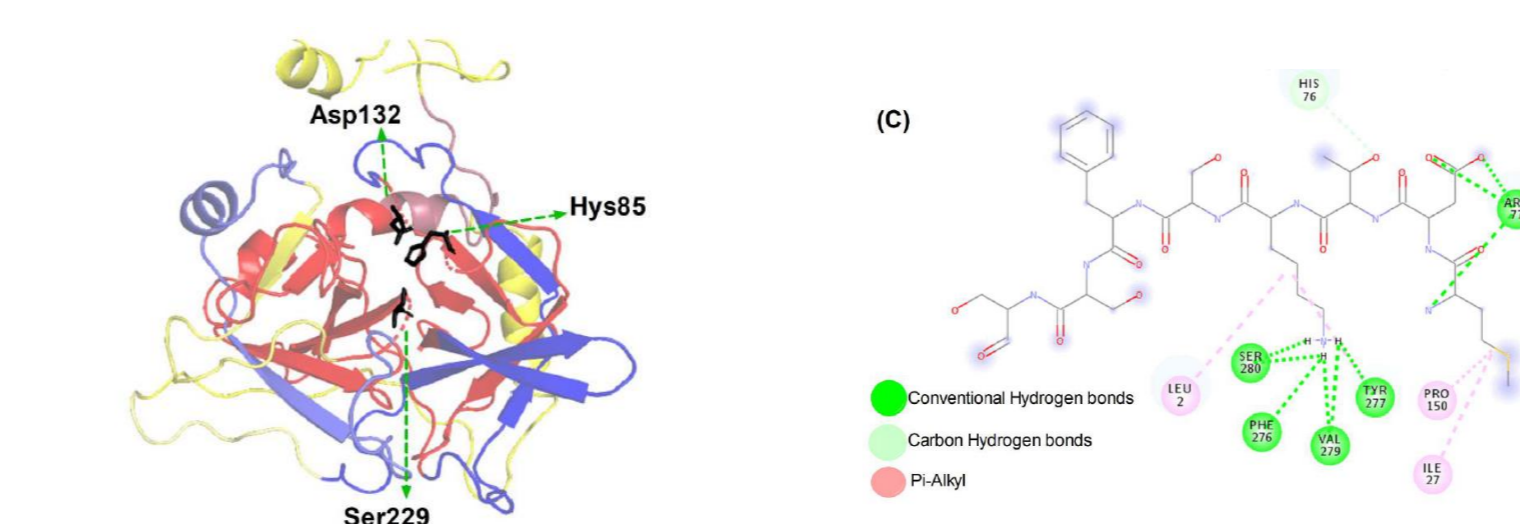
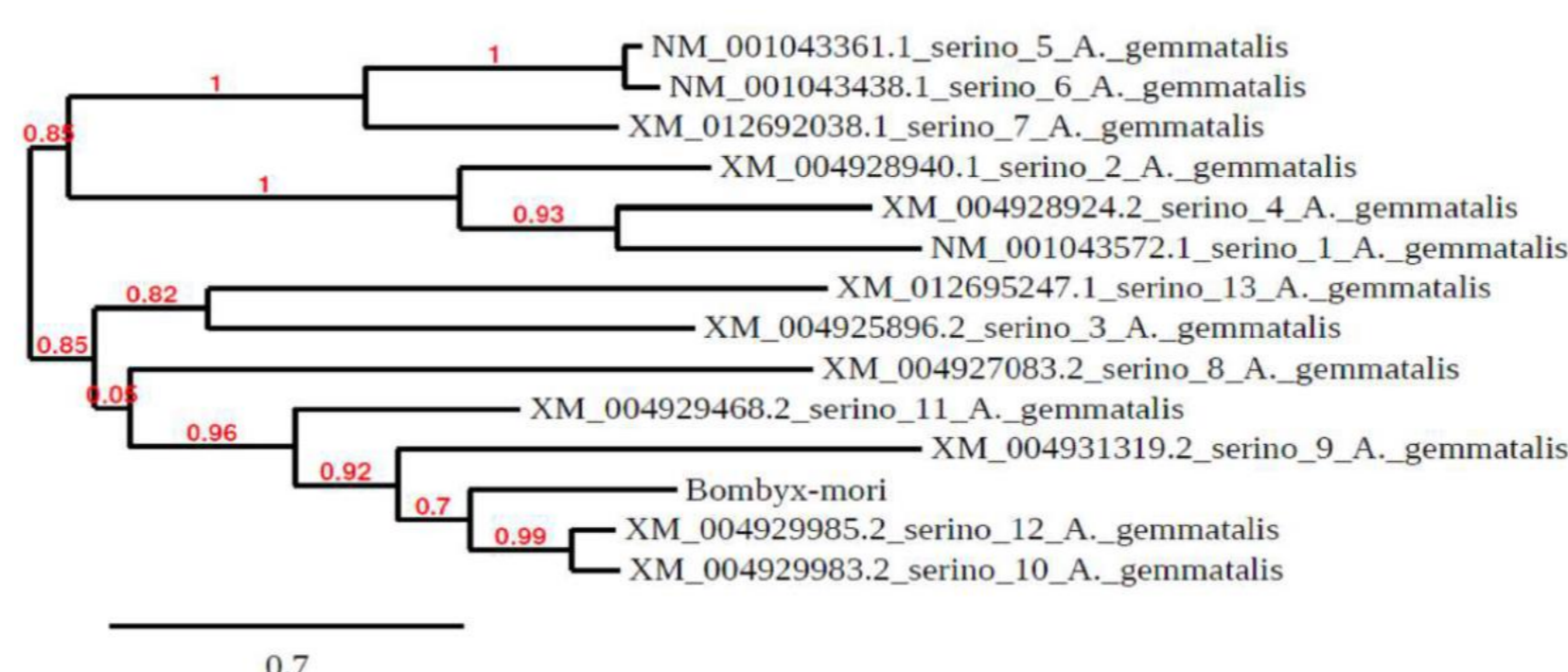
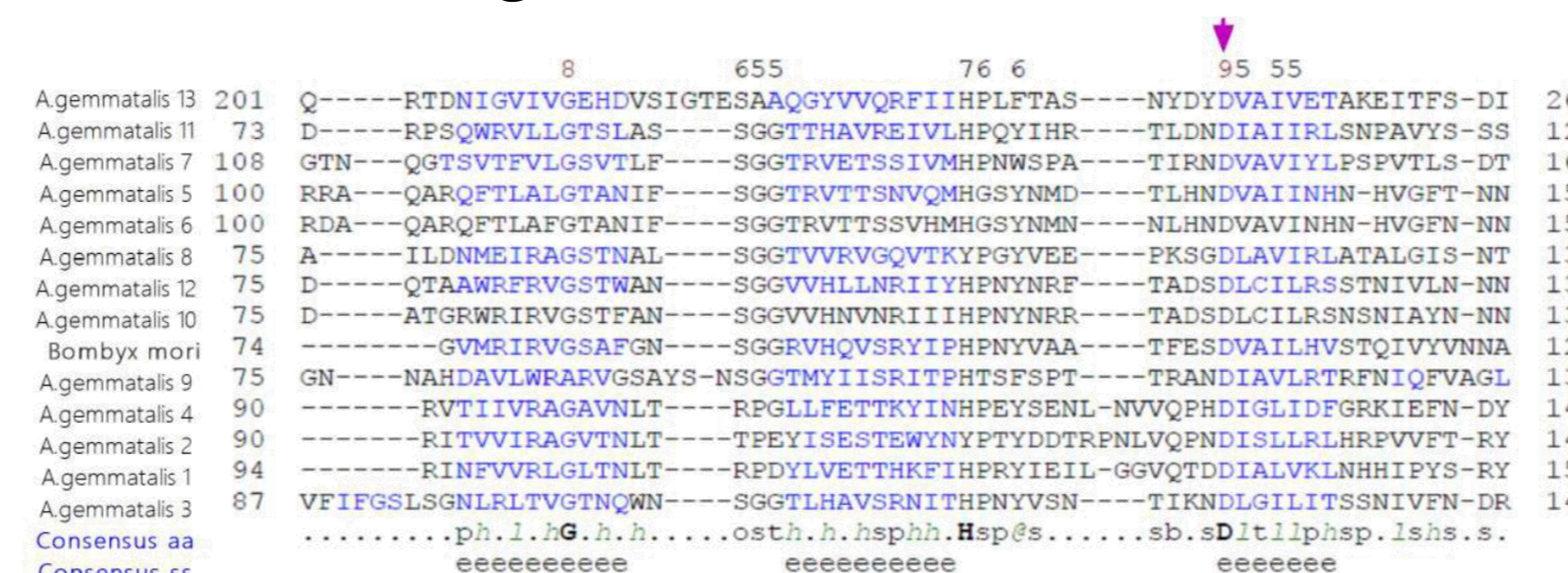
Realizamos a análise proteômica do intestino de *A. gemmatalis* por SDS-PAGE, explorando a técnica de *short run*, seguida de espectrometria de massas (LC/MS) a fim de identificar e caracterizar as proteases. Além disso, examinamos as interações das proteínas identificadas com inibidores de protease (IP) por meio de *docking* molecular.



Resultados e Discussão

O proteoma intestinal da lagarta da soja revelou 572 ORFs utilizando o transcriptoma de *A. gemmatalis* como referência. Quando comparado com o banco de lepidópteras (lepbases.org), 219 proteínas homólogas não redundantes foram identificadas, das quais 43 eram serino proteases. A predição de estrutura terciária foi predita pelo PHYRE2, utilizando os modelos de alinhamento de Markov via HHsearch. Os modelos de tripsina foram preditos com 100% de confiança e identidade maior que 30%.

A primeira validação da qualidade estereoquímica foi realizada usando a análise de plotagem de Ramachandran computada com PROCHECK, verificando resíduo por resíduo das estruturas da proteína. A análise mostrou que os resíduos de tripsinas de *A. gemmatalis* na região mais favorecida adicionada à região permitida estavam acima de 95% e a região outlier estava entre 3,7 e 1,9%. O gráfico de Ramachandran revelou que a estrutura terciária de todas as tripsinas tem uma boa estereoquímica de cadeias. A análise de *docking* mostrou que o IP de soja (SKTI) pode se ligar às sequências de tripsina e, portanto, a resistência a insetos não parece envolver a alteração das sequências do sítio de ligação do IP. Além disso, o inibidor SERPIN foi identificado e a análise de interação mostrou que o sítio de ligação inibitório está em contato com o sítio catalítico da tripsina, atuando como um regulador.



Conclusões

O arsenal hidrolítico apresentado permite uma compreensão mais abrangente da alimentação de insetos. Além disso, a SERPIN e as sequências de IP identificados podem ser alvos para o controle da atividade proteolítica no intestino da lagarta e servem como suporte para o desenho racional de uma molécula com maior estabilidade, menos propensa a clivagem por proteases e viável para o controle de pragas de insetos, como *A. gemmatalis*.

Apoio Financeiro



Agradecimentos

