



Glicosilação de proteínas de culicídeos e sua influência na capacidade de interação com a toxina Bin do *Bacillus sphaericus*

Nathaly A. do Nascimento¹, Lígia M. Ferreira¹, Tatianny P. A. Romão¹, Heverly Suzany G. de Menezes¹, Osvaldo P. de-Melo-Neto², Maria H. N. L. Silva-Filha¹

¹Departamento de Entomologia, ²Departamento de Microbiologia Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). Av. Moraes Rego s/n, campus da UFPE 50670-420 Recife, PE, Brasil. Email: nathaly@cpqam.fiocruz.br

O *Bacillus sphaericus* (Bsp) é uma bactéria entomopatogena de culicídeos e seu principal fator tóxico é a toxina Binária (Bin). A ação da toxina Bin em larvas de *Culex quinquefasciatus* depende da sua ligação específica a receptores do epitélio intestinal, as α -glicosidases Cqm1. Larvas de *Aedes aegypti* são refratárias ao Bsp e expressam no epitélio a proteína Aam1 que é ortóloga com 74% de identidade à Cqm1, entretanto, a Aam1 não tem capacidade de ligar-se à toxina Bin. O padrão de glicosilação é uma diferença marcante entre estas proteínas, pois a Cqm1 aparentemente não é glicosilada enquanto a Aam1 possui carboidratos. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da glicosilação destas proteínas na sua capacidade de interação com a toxina Bin. As proteínas Cqm1 e Aam1 foram expressas em células Sf9, sob as formas selvagens e mutantes, nos sítios de glicosilação preditos (SGP) *in silico* destas proteínas, através de mutagênese sítio-dirigida. As proteínas recombinantes foram analisadas em relação ao padrão de glicosilação e à capacidade de ligação com a toxina Bin. A proteína Cqm1 possui três SGP's em sua seqüência, entretanto, a análise "*in vivo*" usando o tratamento com a endoglicosidase PNGaseF mostrou que não há carboidratos na cadeia polipeptídica e que, portanto glicanos não seriam importantes para a sua capacidade de ligação à toxina Bin. A proteína Aam1 possui seis SGP's na sua seqüência e a análise "*in vivo*" mostrou que há carboidratos inseridos em pelo menos quatro destes sítios. A remoção de glicanos em cada um destes sítios e a remoção combinada em dois deles não interferiu na incapacidade da Aam1 de ligar-se à toxina Bin. Os dados indicam fortemente que os carboidratos da Aam1 não são responsáveis por esta característica, no entanto, é necessária a produção de uma Aam1 completamente desprovida de glicanos para confirmar este achado. Estudos adicionais necessitam ser realizados para elucidar a função desta modificação pós-traducional na proteína Aam1.

Palavras-chave: Proteínas; *Aedes aegypti*; *Culex*.

Apoio: CNPq, FIOCRUZ, FACEPE processo APQ 0427-2.13/08