

Identificação e caracterização estrutural da fosfolipase A1 do veneno da vespa neotropical *Apoica pallens*

Gabriel Hideki Izuka Moraes, Amilcar Perez Riverol, José Roberto Aparecido dos Santos Pinto, Mario Sergio Palma. Câmpus Rio Claro, Instituto de Biociências, Ciências Biológicas, gabriel.hideki@hotmail.com, bolsista PIBIC.

Palavras Chave: fosfolipase A1, vespa, proteômica.

Introdução

Insetos da ordem Hymenoptera (abelhas, vespas e formigas) possuem elevada importância clínica. Seus venenos são constituídos de uma mistura de moléculas bioativas responsáveis por desencadear efeitos tóxicos locais e reações sistêmicas na vítimas de ferroadas desses insetos. Proteínas compõem fração significativa do veneno e são as responsáveis por induzir reações de hipersensibilidade. Em vespas sociais, uma das proteínas mais comuns é a fosfolipase A1 (PLA1), que atua na ruptura de membranas biológicas. Sua caracterização molecular é de grande importância para a compreensão do processo de envenenamento e para o desenvolvimento de kits diagnósticos de alergia ao veneno de vespas sociais¹.

Objetivo

Identificar, isolar, sequenciar e modelar a estrutura tridimensional da fosfolipase A1 (Apo p 1) da vespa social neotropical, *Apoica pallens*, por meio de técnicas de proteômica e bioinformática.

Material e Métodos

1. Coleta de vespas e extração do veneno;
2. Identificação da proteína por SDS-PAGE e purificação por cromatografia por troca catiônica;
3. Digestão enzimática *in gel* e em solução;
4. Análise por espectrometria de massas e sequenciamento dos fragmentos peptídicos por busca em banco de dados e sequenciamento *de novo*;
5. Alinhamento manual por sobreposição dos peptídeos;
6. Predição de epítomos lineares, modificações pós-traducionais e estrutura tridimensional por ferramentas computacionais.

Resultados e Discussão

Foi obtida uma proteína com 299 resíduos de aminoácidos, conforme mostrado na Figura 1. Um alinhamento múltiplo revelou maior semelhança (por identidade) com a PLA1 de *Polistes dominula* (77 %) e *Polybia paulista* (73,5 %), ambas pertencentes à subfamília Polistinae.

Figura 1. Sequência primária do Apo p 1.

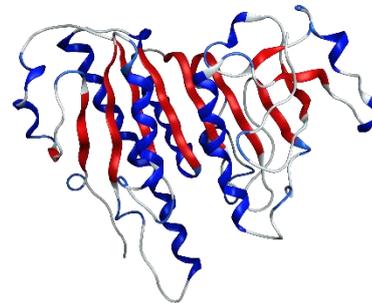
```

10      20      30      40      50      60
GFFPDC TFDE KDLFHVYSR QDPDGLLLK DNLDKDYDLFQ KPKSHQVAFI IHGFLSTGNN
N-terminal
70      80      90      100     110     120
ENFIAIAKAL VEKDNFLVMS VDWKKGACNA SPFNLP GPYK AVGNDRHLGK YVADFTKLLV
130     140     150     160     170     180
EQYKVPMSNI RLVGHS LGAH ISGFAGKEAQ KLKLGKYKEI IGLDPAGPFF TSNDCRERLC
190     200     210     220     230     240
VTDAEYVQVL HTSNKLGTYK LGSVDFYLN Y GKYOPGCVYP SCSHTKALKY LTECIKRECC
250     260     270     280     290
LIGTPWNVDK STAKPLSQCT KRDTCCVGL NAQSYPAKGS FYVPVEKNSP YCHNEGIKL
C-terminal

```

Foram apontados dois possíveis sítios de N-glicosilação, 21 de O-glicosilação e 27 de fosforilação. A modelagem tridimensional (Figura 2) revelou 23 % de α -hélices e 28 % de folhas- β . Foram identificadas 14 regiões que poderiam conter epítomos lineares de células- β , demonstrando uma potencial alergenicidade.

Figura 2. Modelo 3D representativo do Apo p 1.



Conclusões

A fosfolipase A1 de *A. pallens* é uma proteína com alto grau de identidade com proteínas homólogas de outras espécies, especialmente da subfamília Polistinae. Simulações *in silico* permitiram inferir diversas características estruturais, incluindo determinantes de alergenicidade.

Agradecimentos

Agradeço aos integrantes do laboratório pelo auxílio nos experimentos e na análise dos resultados; ao meu orientador pelo espaço e pela oportunidade de realizar este trabalho; ao CNPq pelo financiamento.

¹ Perez-Riverol, A. P.; Lasa, A. M.; Santos-Pinto, J. R. A. e Palma, M. S. *Insect. Biochem. Mol. Biol.* **2019**, *105*, 10-24.