

Influência da glicosilação na atividade catalítica de α -glicosidases de *Culex quinquefasciatus* e *Aedes aegypti*

Nathaly A. do Nascimento¹, Darleide M. C. Correia^{2,3}, Tatiany P. Romão¹, Osvaldo P. de Melo Neto¹, Antônio M. Rezende¹, Maria Helena N. L. Silva Filha¹.

¹Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Av. Moraes Rego, s/n, Campus da UFPE - Cidade Universitária - Recife/PE - CEP: 50670-420. ²Bolsista Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Av. Moraes Rego, s/n, Campus da UFPE - Cidade Universitária - Recife/PE - CEP: 50670-420. ³ Universidade Federal de Pernambuco, Av. Professor Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901

A bactéria *Lysinibacillus sphaericus* é produtora da toxina Bin, que apresenta ação larvicida para *Culex quinquefasciatus*, espécie epidemiologicamente importante pois é vetor da *Wuchereria bancrofti*, que é o agente etiológico da filariose. A toxina Bin atua em *C. quinquefasciatus* através da ligação a receptores presentes no epitélio intestinal das larvas, a α -glicosidase (EC 3.2.1.20) Cqm1. Larvas de *Aedes aegypti* expressam uma proteína ortóloga, a α -glicosidase Aam1, porém são refratárias a este larvicida. Apesar da similaridade, estas proteínas apresentam um diferente padrão de N-glicosilação, a Aam1 é fortemente glicosilada enquanto a Cqm1 não demonstra glicosilação aparente. Esta modificação não influencia na capacidade de ligação das proteínas à toxina Bin. O objetivo do estudo foi avaliar a influência da N-glicosilação na capacidade catalítica das glicosidases Cqm1 e Aam1. Proteínas selvagens e mutantes em sítios preditos de glicosilação (SPG) foram expressas em células Sf9 e tiveram sua atividade catalítica avaliada. As mutações das proteínas Aam1 consistiram na retirada de um ou dois SPG. As proteínas recombinantes exibiram atividade enzimática ótima a 37 °C, pH 7.5-8.0 utilizando o substrato pN α G, sendo detectado que a atividade da Aam1 é superior e apresenta maior velocidade de catálise em relação à Cqm1. A retirada de um ou dois sítios SPG nas proteínas Aam1 mutantes ou a deglicosilação total da molécula tratada com a endoglicosidase PNGase F provocou a redução da atividade catalítica em relação à Aam1 selvagem. Os dados mostram que a N-glicosilação diferencial da Aam1 está associada a uma maior eficiência catalítica em relação à proteína Cqm1 e tem importante papel na diversidade destas proteínas. O conhecimento da biologia de culicídeos de importância médica contribui para melhor compreensão e aplicação de métodos de controle vetorial.

Palavras-chave: alfa-glicosidases, *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti*.

Apoio: CNPq-FIOCRUZ, FACEPE.