

Antigenicidade cruzada entre formas recombinantes e nativas de cistatinas e glutatona S-transferases de carrapatos



Saggin, B.F.¹; da Silva Vaz Jr I.^{1,2}

¹ Centro de Biotecnologia, UFRGS, RS, Brasil; ² Faculdade de Veterinária, UFRGS, RS, Brasil



Introdução

Glutationa S-transferases (GSTs) são enzimas envolvidas em desintoxicação celular, enquanto que cistatinas são inibidores de peptidases. Ambas proteínas são potenciais antígenos vacinais contra carrapatos. Em um ensaio de vacinação contra *Rhipicephalus appendiculatus* utilizando uma GST de *Haemaphysalis longicornis* (rGST-HI) e uma cistatina de *Rhipicephalus microplus* (rBrBmcys2c), apenas a rGST-HI induziu proteção. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a resposta humoral desenvolvida contra essas duas proteínas visando caracterizar essas distintas proteções.

Materiais e métodos

Foi realizado a expressão de rBrBmcys2c em *Escherichia coli* e feita sua purificação através de afinidade ao Ni²⁺; a rGST-HI foi previamente produzida. Por Western blot, foi testado o reconhecimento cruzado dos soros contendo anticorpos anti-rGST-HI e anti-rBrBmcys2c contra formas nativas de GSTs e cistatinas, respectivamente, em diferentes tecidos de *R. appendiculatus*. Através de ELISA, foi feita a titulação desses soros e, para verificar se os mesmos ligavam-se a células embrionárias de *R. microplus* (BME26), foi realizado Dot blot.

Resultados

Western Blot: Os anticorpos anti-rGST-HI reconhecem as GSTs nativas em diferentes tecidos de *R. appendiculatus* (Fig. 1). O mesmo não foi visto para anti-rBrBmcys2c (Fig. 2).

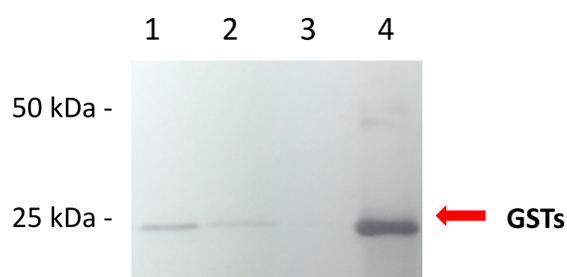


Fig 1: Western blot de extratos de glândulas salivares (1), ovário (2) e intestino (3) de fêmeas adultas de *R. appendiculatus*, contra soro de coelho imunizado com rGST-HL. Controle positivo: rGST-HL (4).

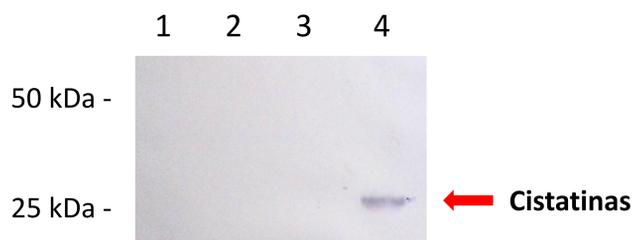


Fig 2: Western blot de extratos de glândulas salivares (1), intestino (2) e ovário (3) de fêmeas adultas de *R. appendiculatus*, contra soro de coelho imunizado com rBrBmcys2c. Controle positivo: rBrBmcys2c (4).

ELISA: os soros anti-rGST-HI e anti-rBrBmcys2c possuem títulos de 1.024.000 e 512.000 para os respectivos antígenos.

Dot Blot: Ambos os anticorpos testados, anti-rGST-HI e anti-rBrBmcys2c, possuem a capacidade de ligação nas células embrionárias de *R. microplus* (BME26) (Fig. 3).

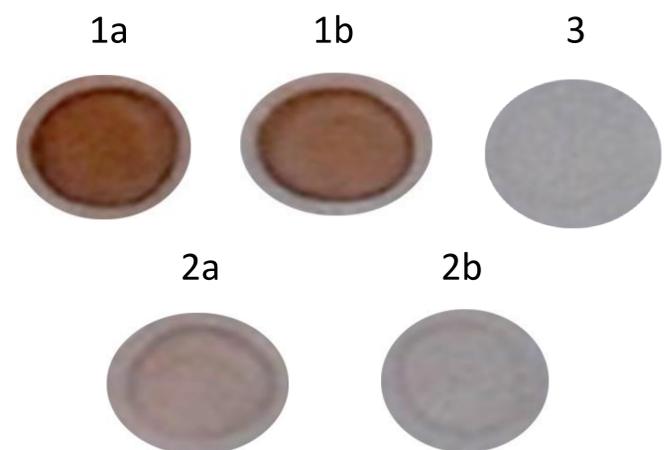


Fig 3: Anticorpos anti-GST-HL em duplicata (1a, 1b) e anti-rBrBmcys2c em duplicata (2a, 2b) reconhecendo células BME26 através do Dot blot e controle negativo (3).

Conclusão

Foi verificado a imunogenicidade de ambas proteínas, assim como a capacidade de ligação dos anticorpos anti-rBrBmcys2c e anti-rGST-HI para as proteínas nativas dos carrapatos, conclui-se que outros fatores afetam o grau de proteção conferido por essas vacinações. Verificar o efeito inibitório desses anticorpos na atividade das cistatinas e GSTs em reações enzimáticas ajudará a esclarecer essa diferença.

