

XU Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

28^o
Encontro de Iniciação Científica da UENF

20^o
Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

16^a
Jornada de Iniciação Científica da UFF



UIII Congresso Fluminense de Pós-Graduação

23^a
Mostra de Pós-Graduação da UENF

8^a
Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

8^a
Mostra de Pós-Graduação da UFF

Interação da hemoglobina com a matriz peritrófica do mosquito *Aedes aegypti*

Karla Barreto da Silva Orozimbo, Desiely Silva Gusmão, Olga Lima Tavares Machado, Fransisco José Alves Lemos.

O mosquito *Aedes aegypti* é principal vetor da dengue, da febre amarela, da chikungunya e do Zika vírus. A transmissão dos vírus ocorre durante a alimentação sanguínea da fêmea infectada, que necessita de sangue para iniciar a vitelogenese. A digestão da hemoglobina, principal fonte de proteína do sangue, resulta na liberação de grande quantidade de heme, molécula altamente pró-oxidante, no lúmen intestinal. A matriz peritrófica (MP) membrana produzida entre o epitélio e o lúmen intestinal durante a digestão sanguínea em mosquitos, tem um importante papel antioxidante, por ter a capacidade de associar grande parte de heme livre à sua estrutura. Nesse contexto, nosso trabalho tem por objetivo, investigar a ligação da hemoglobina à MP de *A. aegypti* durante a digestão sanguínea. Para isso, realizamos microscopia óptica de intestinos médios dissecados em tempos crescentes do processo digestivo e realizamos métodos bioquímicos, como, a eletroforese em gel desnaturante e não desnaturantes de poli-acrilamida, seguido de coloração por Coomassie Blue e detecção da atividade peroxidásica, de MPs extraídas com diferentes tampões com capacidades crescentes de solubilização de proteínas. Após a extração, as proteínas foram submetidas à técnica de Western blotting e o sequenciamento amino-terminal das proteínas majoritárias. Podemos observar na microscopia óptica, que os intestinos, inicialmente de cor avermelhada, foi escurecendo gradualmente da região posterior em direção à região anterior entre 16 e 22h. Após 30h o intestino estava completamente escuro e o seu tamanho foi reduzido, tornando-se vazio e com cor esverdeada após 72h. O perfil das MPs extraídas de mosquitos alimentados com sangue e com plasma+hemoglobina mostrou a presença de duas proteínas predominantes que migram similarmente as subunidades da hemoglobina. Essas proteínas também apresentam coloração marrom e atividade peroxidásica, que aumenta no decorrer da digestão, resultado não observado em mosquitos alimentados com plasma+albumina e plasma+hemina. Foi possível confirmar, através de sequenciamento, que as proteínas majoritárias da PM são as subunidades da hemoglobina. A mudança de coloração dos intestinos ao longo da digestão é possivelmente resultado da incorporação do heme a MP, que demonstra ocorrer de forma gradual. Baseado nesses resultados, podemos concluir que a hemoglobina associa-se fortemente à MP e participa da ligação do heme à MP no processo digestivo. Novos experimentos serão realizados com a finalidade de determinar a ligação do complexo heme-hemoglobina associado à MP. Entender a fisiologia do processo digestivo é de grande importância para futuros mecanismos de combate ao vetor.

Palavras-chaves: Matriz peritrófica, Interação, Hemoglobina

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (PPG Biociências e Biotecnologia)
CAPES

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



XU Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

28^o
Encontro de Iniciação Científica da UENF

20^o
Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

16^a
Jornada de Iniciação Científica da UFF



U III Congresso Fluminense de Pós-Graduação

23^a
Mostra de Pós-Graduação da UENF

8^a
Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

8^a
Mostra de Pós-Graduação da UFF

Interaction of hemoglobin with the peritrophic matrix of the mosquito *Aedes aegypti*

Karla Barreto da Silva Orozimbo, Desiely Silva Gusmão, Olga Lima Tavares Machado, Fransisco José Alves Lemos.

The *Aedes aegypti* mosquito is the main vector of dengue, yellow fever, chikungunya and Zika virus. Virus transmission occurs during the blood feeding of the infected female, which needs blood to initiate vitellogenesis. The digestion of hemoglobin, the main source of blood protein, results in the release of large amounts of heme, a highly pro-oxidant molecule, into the intestinal lumen. The peritrophic matrix (PM) membrane produced between the epithelium and the intestinal lumen during blood digestion in mosquitoes, has an important antioxidant role, as it has the ability to associate a large part of free heme to its structure. In this context, our work aims to investigate the binding of hemoglobin to *A. aegypti* PM during blood digestion. For this, we performed optical microscopy of dissected midguts at increasing times of the digestive process and performed biochemical methods, such as electrophoresis in denaturing gel and non-denaturing polyacrylamide, followed by Coomassie Blue staining and detection of peroxidase activity, of PMs extracted with different buffers with increasing protein solubilization capabilities. After extraction, proteins were submitted to the Western blotting technique and amino-terminal sequencing of major proteins. We can observe in optical microscopy that the intestines, initially reddish in color, gradually darkened from the posterior region towards the anterior region between 4 pm and 10 pm. After 30h the intestine was completely dark and its size was reduced, becoming empty and greenish after 72h. The profile of PMs extracted from blood-fed and plasma+hemoglobin-fed mosquitoes showed the presence of two predominant proteins that similarly migrate hemoglobin subunits. These proteins also show a brown color and peroxidase activity, which increases during digestion, a result not observed in mosquitoes fed with plasma+albumin and plasma+hemin. It was possible to confirm, through sequencing, that the major proteins of PM are hemoglobin subunits. The change in color of the intestines during digestion is possibly the result of the incorporation of heme to PM, which has been shown to occur gradually. Based on these results, we can conclude that hemoglobin is strongly associated with MP and participates in the binding of heme to PM in the digestive process. New experiments will be carried out in order to determine the binding of the heme-hemoglobin complex associated with PM. Understanding the physiology of the digestive process is of great importance for future vector combat mechanisms.

Keywords: Peritrophic matrix, Interaction, Hemoglobin

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (PPG Biociências e Biotecnologia)
CAPES

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

