

ADRIANO SÍLVIO NETO

**PROTEÔMICA DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL (SINGÂNGLIO) DE
CARRAPATOS *Amblyomma sculptum* (ACARI: IXODIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Aplicada, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Cláudio Lísias Mafra de Siqueira

Coorientador: Edvaldo Barros

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2021**

RESUMO

NETO, Adriano Sílvio, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2021. **Proteômica do sistema nervoso central (singânglio) de carrapatos *Amblyomma sculptum* (Acari: Ixodidae)**. Orientador: Cláudio Lísias Mafra de Siqueira. Coorientador: Edvaldo Barros.

Os carrapatos destacam-se por serem mundialmente reconhecidos por serem vetores de patógenos. A espécie *Amblyomma sculptum* tem importância médico-sanitária por ser vetora da *Rickettsia rickettsii*, agente de Febre Maculosa. O singânglio é uma massa de nervos fusionada e altamente condensada que coordena o metabolismo dos carrapatos garantindo o sucesso reprodutivo e alimentar. O objetivo deste trabalho foi caracterizar e identificar o perfil proteômico do singânglio de carrapatos *A. sculptum* através de abordagens proteômicas. Foram obtidos carrapatos machos e fêmeas na proporção de 1:1, sendo os singânglios dissecados, armazenados em PBS 10X e congelados em ultrafreezer a -80°C até o momento da obtenção dos extratos proteicos. Após o descongelamento, as soluções em PBS 10X contendo os singânglios de espécimens machos e fêmeas foram sonicadas, agitadas e centrifugadas, sendo os sobrenadantes com os extratos proteicos recuperados. Estas amostras foram processadas por meio de duas estratégias diferentes: SDS-PAGE Short-Run e FASP. A digestão enzimática foi realizada com tripsina tanto para o gel quanto para a fração maior que 10KDa, e os peptídeos tripticos foram analisados por LC-MS/MS, seguindo com a comparação das listas de massas geradas com as listas de massas das clivagens teóricas das sequências do Uniprot e a classificação funcional obtida pelo KOG. A identificação de cada proteína foi gerada pelo algoritmo PEAKS, sendo identificado um total de 694 proteínas, verificando-se que as classes de proteínas mais abundantes foram de modificação pós-traducional, chaperonas e citoesqueleto. Dentro das 179 proteínas que não alinharam contra o KOG se apresentou a vitelogenina, proteína esta de localização atípica no singânglio. Esperamos com os resultados obtidos haver contribuído para uma melhor compreensão da neurobiologia e neuroproteômica de carrapatos *A. sculptum*, e verificamos que mais estudos se fazem necessários para um melhor esclarecimento sobre as mais diferentes vias envolvidas na fisiologia do singânglio com o objetivo de apoiar o desenvolvimento e aplicação de novas tecnologias e

modelos para o controle deste ectparasito tão importante para a saúde e sanidade animal, bem como para a saúde pública.

Palavras-chave: Neuroproteômica. Singânglio. Espectrometria de massas. Carrapatos. Controle.

ABSTRACT

NETO, Adriano Sílvio, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February 2021. **Proteomics of the central nervous system (synganglion) of ticks *Amblyomma sculptum* (Acari: Ixodidae)**. Advisor: Cláudio Lísias Mafra de Siqueira. Co-advisor: Edvaldo Barros.

Ticks stand out for being recognized worldwide for being vectors of pathogens. The species *Amblyomma sculptum* has medical and sanitary importance as it is a vector for *Rickettsia rickettsii*, an agent of Spotted Fever. The singanglion is a fused and highly condensed mass of nerves that coordinates the metabolism of ticks ensuring reproductive and feeding success. The objective of this work was to characterize and identify the proteomic profile of the ticks singanglion *A. sculptum* through proteomic approaches. Male and female ticks were obtained in a 1: 1 ratio, with the singangles being dissected, stored in PBS 10X and frozen in an ultra-freezer at -80 ° C until the moment of obtaining the protein extracts. After thawing, the solutions in PBS 10X containing the singangles of male and female specimens were sonicated, agitated and centrifuged, with the supernatants with the protein extracts recovered. These samples were processed using two different strategies: SDS-PAGE Short-Run and FASP. The enzymatic digestion was carried out with trypsin for both the gel and the fraction greater than 10KDa, and the triptych peptides were analyzed by LC-MS / MS, following the comparison of the lists of masses generated with the mass lists of the theoretical cleavages of the Uniprot sequences and the functional classification obtained by KOG. The identification of each protein was generated by the PEAKS algorithm, with a total of 694 proteins being identified, verifying that the most abundant protein classes were post-translational modification, chaperones and cytoskeleton. Within the 179 proteins that did not line up against the KOG, vitellogenin appeared, a protein that is atypical in the singanglion. We hope with the results obtained to have contributed to a better understanding of the neurobiology and neuroproteomics of ticks *A. sculptum*, and we verified that more studies are necessary for a better clarification on the most different pathways involved in the physiology of the singanglion in order to support the development and the application of new technologies and models for the control of this ectoparasite so important for animal health and health, as well as for public health.

Keywords: Neuroproteomics. Singanglion. Mass spectrometry. Ticks. Control.