



FERRAMENTAS GENÔMICAS PARA BIOPROSPECÇÃO DE MOLÉCULAS DE INTERESSE BIOTECNOLÓGICO DE GLÂNDULAS SALIVARES DE *Ornithodoros brasiliensis*

GENOMIC TOOLS FOR BIOPROSPECTING OF BIOTECHNOLOGICAL INTEREST MOLECULES SALIVARY GLANDS OF *O. brasiliensis*

D.N.S. Giovanni¹, G.A. Landulfo¹, L.L. Duarte¹, V.C. Onofrio², S.M. Simons², E. Carvalho³, I.L.M. Junqueira-de-Azevedo⁴ & D.M. Barros-Battesti²

¹Laboratório Especial de Coleções Zoológicas, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil;

²Laboratório de Parasitologia, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil; ³Laboratório de Biotecnologia, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil; ⁴Laboratório Especial de Toxinologia Aplicada, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil.

Ornithodoros brasiliensis Aragão é um carrapato endêmico do Brasil, restrito às regiões serranas e frias do estado do Rio Grande do Sul. É uma espécie bastante agressiva aos humanos, causando febre, muita dor e intensa resposta inflamatória no local da picada. Apesar de mais de 50 anos sem registro de sua ocorrência, há poucos anos, alguns espécimes de carrapatos da mesma localidade foram enviados vivos ao Instituto Butantan para serem identificados, iniciando-se então uma colônia de *O. brasiliensis*. Hoje *O. brasiliensis* é mantido em colônia no laboratório para diferentes propósitos. O ciclo biológico desta espécie compreende 5 instares ninfais no total, com machos emergindo a partir do 3º instar e fêmeas emergindo principalmente após o 4º instar ninfal. Além disso, foi constatado que as larvas não se alimentam e mudam para o primeiro instar ninfal alguns dias após a eclosão (Barros-Battesti et al. 2012b, Ramirez 2012). Considerando a gravidade das picadas provocadas pela saliva desta espécie, e da dificuldade de obtenção de um grande número de exemplares para extração de um volume significativo de saliva, foi construído um transcriptoma por pirosequenciamento utilizando o 454 junior (Roche) a partir do pool de 50 pares de glândulas nos tempos zero, 24 e 48 horas após alimentação de fêmeas. Os resultados obtidos do transcriptoma das glândulas salivares das fêmeas de *O. brasiliensis* mostraram uma vasta



caracterização de transcritos. No total foram descritos 4558 contigs, e destes, 20,93% foram classificados como pertencentes à via secretória e 14,77% na forma de proteínas de membrana, confirmando o tecido glandular. As principais famílias foram: lipocalinas (15,6%), moubatinas (6,23%), proteínas de cauda ácida (1,63%) e metaloproteases (1,23%). As transcrições mais frequentes estão relacionadas à anticoagulação, toxicidade e imunomodulação. As vias biológicas mais ativas corresponderam à adesão e atividades catalíticas (Barros-Battesti et al. 2012a, Giovanni et al. 2014). Estudos utilizando a saliva de *O. brasiliensis* mostraram componentes ativos capazes de retardar a cicatrização de lesões cutâneas e diminuir a proliferação celular em cultivo in vitro (Reck et al. 2013). Diversos grupos de sequências de interesse para clonagem e expressão, como metaloproteases, lipocalinas, toxina paralisante (moubatina) e reguladoras do ciclo celular (apoptótica) foram selecionadas. Dentre elas seis foram isoladas em vetor pCR2.1-TOPO e confirmadas por sequenciamento. As 6 sequências isoladas, estão sendo subclonadas em vetor bacteriano de expressão pET28a. A obtenção de proteínas recombinantes em quantidades suficientes para estudos das atividades biológicas, possibilitará o entendimento melhor do funcionamento do órgão e dos efeitos causados no hospedeiro após a picada, como por exemplo a toxicose relatada por (Reck et al. 2011, Reck et al. 2013).

Referências

- Barros-Battesti, D.M., A.C.V. Carmo, L.A.B. Proenca, L.V. Pevidor, P.L. Ho, Í.L.M. Junqueira-de-Azevedo & E. Carvalho (2012a). Transcriptional Characterization Of The Salivary Glands Of *Ornithodoros Brasiliensis* (Acari: Argasidae). *15th European Congress on Biotechnology is Biocrossroads*. E. F. o. B. (EFB). Istanbul - Turkey.
- Barros-Battesti, D.M., V.C. Onofrio, F.A. Nieri-Bastos, J.F. Soares, A. Marcili, K.M. Famadas, J.L.H. Faccini, D.G. Ramirez, R.L. Doyle, J.R. Martins, J.R. Junior, A.A. Guglielmone & M.B. Labruna (2012b). *Ornithodoros brasiliensis* Aragão (Acari: Argasidae): description of the larva, redescription of male and female, and neotype designation. *Zootaxa*, 3178, 22–32.



- Giovanni, D.N.S., G.A. Landulfo, L.L. Duarte, F.F. Santos, P.L. Ho, R.Z. Mendonca, E. Carvalho, I.L.M. Junqueira-de-Azevedo, L.A.B. Proenca & D.M. Barros-Battesti (2014). Preliminary analysis of the transcriptome of salivary glands of *Ornithodoros brasiliensis* (Acari: Argasidae). *BMC Proceedings*, 8(Suppl 4), 145.
- Ramirez, D.G. (2012). *Ornithodoros brasiliensis* (Acari: Argasidae): estudos morfológicos de larvas e adultos, ciclo biológico em condições laboratoriais e investigação e diagnóstico de *Rickettsia* spp. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
- Reck, J., F.S. Marks, J.A. Guimarães, C. Termignoni & J.R. Martins (2013). Epidemiology of *Ornithodoros brasiliensis* (mouro tick) in the southern Brazilian highlands and the description of human and animal retrospective cases of tick parasitism. *Ticks and tick-borne diseases*, 4(1-2), 101–109.
- Reck, J., F.S. Marks, C. Termignoni, J.A. Guimarães & J.R. Martins (2013). *Ornithodoros brasiliensis* (mouro tick) salivary gland homogenates inhibit in vivo wound healing and in vitro endothelial cell proliferation. *Parasitology Research*, 112(4), 1749–1753.
- Reck, J., J.F. Soares, C. Termignoni, M.B. Labruna & J.R. Martins (2011). Tick toxicosis in a dog bitten by *Ornithodoros brasiliensis*. *Veterinary Clinical Pathology*, 40(3), 356–360.