

Identificazione di due serin proteasi nel veleno di *Leptomastix dactylopii* mediante spettrometria di massa tandem

S. Laurino¹, R. Pascale¹, G. Grossi¹, P. Schmitt-Kopplin², C. Labella¹, H. Vogel³, F. Villani⁴, S. A. Bufo¹, G. Bianco¹, P. Falabella¹.

¹Università degli Studi della Basilicata - Dipartimento di Scienze; ²Helmholtz Zentrum München German Research Center for Environmental Health Research Unit Analytical BioGeoChemistry (BGC) ³Host Plant Adaptation, Max Planck Institute for Chemical Ecology - Department of Entomology; ⁴Tab Consulting s.r.l.

Negli ultimi decenni la spettrometria di massa è stata ampiamente utilizzata per l'analisi di campioni biologici diventando uno strumento indispensabile nella ricerca proteomica e nello specifico della venomica. Per venomica si intende lo studio dell'intero venoma, ossia l'intero pull di peptidi e proteine di uno specifico veleno. Riportiamo un approccio combinato di trascrittomica e proteomica utilizzato per identificare le proteine presenti nel veleno di *Leptomastix dactylopii*. *L. dactylopii* è un parassitoide (Imenottero, Encyrtidae) della cocciniglia *Planococcus citri* (Omottero, Pseudococcidae) parassita dannoso per gli agrumi e le piante ornamentali (insetti gentilmente concessi dalla Biofabbrica di Ramacca, Catania). Il veleno di *L. dactylopii*, frazionato mediante elettroforesi bidimensionale (2D-PAGE), ha evidenziato la presenza di 87 spots proteici con maggiore intensità nel range di punto isoelettrico compreso tra 4-7 e massa molecolare tra 25-120 kDa. La digestione con tripsina è stata effettuata su due degli spots più intensi, uno a MW 30 kDa e pI 6 e l'altro a MW 28 kDa e pI 7, rispettivamente. La miscela peptidica è stata analizzata mediante iniezione diretta (+) - ESI-FTICR-MS (12T). Per ogni spettro di massa, i due picchi più intensi sono stati frammentati mediante dissociazione indotta da collisione (CID) e l'interpretazione degli spettri di massa tandem (MS/MS) ha consentito di ottenere informazioni riguardo la sequenza aminoacidica. Queste sequenze amminoacidiche sono state ritrovate nel database proteico (Leptodatabase), da noi costruito, ottenuto dalla traduzione del trascrittoma delle ghiandole del veleno costituito da 27477 sequenze nucleotidiche (contigs). L'annotazione funzionale mediante Blast2GO ha consentito di identificare entrambe le proteine come putative serin proteasi. È noto che questi enzimi partecipano alla risposta immunitaria innata negli insetti e attraverso il loro sito attivo (serina, istidina e aspartato), sono coinvolti nella cascata della profenolossidasi (PPO) convertendo la PPO in fenolossidasi attiva (PO). Una volta attiva, la PO catalizza la formazione di intermedi reattivi per la sintesi della melanina, la quale risulta altamente tossica in elevate concentrazioni. Una melanizzazione eccessiva dovuta ad una iperattivazione del sistema PPO, da parte delle serin proteasi, può fatalmente danneggiare gli insetti.