



## SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2016
<b>Local</b>	Campus do Vale - UFRGS
<b>Título</b>	Caracterização de uma fosfatase putativa de Mycoplasma hyopneumoniae e de Mycoplasma flocculare e predição de sítios de fosforilação em proteínas destas micoplasmas
<b>Autor</b>	GABRIELA ELIS WACHHOLZ
<b>Orientador</b>	HENRIQUE BUNSELMEYER FERREIRA

## **Caracterização de uma fosfatase putativa de *Mycoplasma hyopneumoniae* e de *Mycoplasma flocculare* e predição de sítios de fosforilação em proteínas destas micoplasmas**

Gabriela E. Wachholz, Karina R. Lorenzatto & Henrique B. Ferreira

Laboratório de Genômica Estrutural e Funcional, Centro de Biotecnologia, UFRGS.

*Mycoplasma hyopneumoniae* e o *Mycoplasma flocculare* são duas espécies de micoplasma capazes de se aderir ao epitélio ciliar do trato respiratório de suínos. Estudos genômicos e transcritômicos comparativos entre essas duas espécies demonstram que elas compartilham grande parte dos genes conhecidos relacionados à virulência, mas, enquanto *M. hyopneumoniae* é patogênica, causando a pneumonia enzoótica suína, *M. flocculare* é comensal. Assim, acredita-se que diferenças entre proteínas ortólogas possam ser determinantes da distinção entre os modos de vida dessas espécies de micoplasmas. Tais diferenças podem estar associadas à presença de domínios exclusivos ou divergentes ou a diferentes padrões de modificações pós-traducionais (MPTs). Dentre as MPTs mais comumente descritas em bactérias estão as fosforilações e desfosforilações, mediadas, respectivamente, por quinases e fosfatases. Até o presente momento, genes relacionados a estas enzimas ainda não foram anotados nos genomas sequenciados de *M. hyopneumoniae* e *M. flocculare*. Porém, considerando que cerca de 40% dos genes destas micoplasmas permanece sem anotação funcional, a presença deles nos genomas destas micoplasmas não pode ser excluída. A primeira etapa deste trabalho consistiu na análise de 279 e 341 sequências deduzidas de aminoácidos de *M. hyopneumoniae* e *M. flocculare*, respectivamente, anotadas como hipotéticas ou hipotéticas conservadas. Utilizando a ferramenta BLAST e sequências de proteínas anotadas como quinases ou fosfatases em outras bactérias, foi feita a busca por domínios relacionados a estas enzimas. Como resultado, foi identificada uma fosfatase putativa de *M. hyopneumoniae* (MHP\_0450) e a respectiva ortóloga de *M. flocculare* (MFC\_00318), as quais foram selecionadas para estudos funcionais comparativos. Para tanto, as sequências codificadoras da MHP\_0450 e da MFC\_00318 serão clonadas e expressas em *Escherichia coli*, para produção das proteínas recombinantes correspondentes. Até o momento, a sequência codificadora da MHP\_0450 foi amplificada por PCR *overlap*, para permitir a troca de códons TGA (codificadores de triptofano em *M. hyopneumoniae*, mas de parada em *E. coli*), por códons TGG. A clonagem da MHP\_450 no vetor de expressão pGEX-TEV será realizada por recombinação *in vivo* e a proteína recombinante (rMHP\_0450) será utilizada em ensaios funcionais, para demonstração e caracterização de sua potencial atividade como fosfatase. Além disso, as sequências aminoacídicas de todas as proteínas anotadas para *M. hyopneumoniae* e *M. flocculare* foram submetidas a análises de predição de fosforilação em resíduos de serina (S) e treonina (T), utilizando a ferramenta NetFosfoBac 1.0. Dos 30477 e 26368 resíduos de S e T analisados, 6802 (22,3%) e 5909 (22,4%) foram preditos como fosforilados em *M. hyopneumoniae* e *M. flocculare* respectivamente. De acordo com os resultados desta análise *in silico*, não foi possível observar uma diferença significativa nos padrões de fosforilação em resíduos S e T preditos entre estas duas micoplasmas. Entretanto, como a fosforilação é uma MPT reversível e dinâmica, outras abordagens, como por exemplo, a fosfoproteômica, precisam ser realizadas para avaliação da acurácia destes dados de predição e da dinamicidade deste tipo de MPT nestas espécies. Assim, espera-se demonstrar não somente a ocorrência de fosfatases em *M. hyopneumoniae* e *M. flocculare*, mas também possíveis diferenças de expressão ou de atividade que possam estar regulando padrões de fosforilação nestas micoplasmas, os quais podem estar correlacionados à patogenicidade.