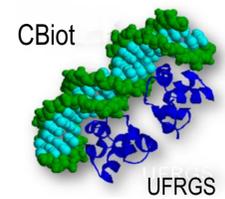


Caracterização *in silico* e *in vitro* de “Expressed protein” (EgrG_000302900.1), “Hypothetical protein” (EgrG_000534900.1), “Papilin” (EgrG_001181950) e “Mastin” (EgrG_000085400.1) de *Echinococcus spp.*

Aline Brugnera Felkl, Arnaldo Zaha

Centro de Biotecnologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS
abfelkl@gmail.com



INTRODUÇÃO

O gênero *Echinococcus* compreende endoparasitos obrigatórios que necessitam de dois hospedeiros mamíferos para completar seus ciclos de vida. Dentre as espécies, *Echinococcus granulosus*, cujo hospedeiro definitivo é um canídeo e os hospedeiros intermediários são principalmente ungulados domésticos e, acidentalmente, seres humanos, apresenta elevada relevância médica e veterinária por se tratar do agente etiológico da hidatidose cística, zoonose associada a grandes prejuízos na pecuária e a despesas no tratamento de pacientes humanos. A forma larval patogênica do parasito é caracterizada pela formação do cisto hidático, preenchido internamente pelo líquido hidático, considerado um reservatório de proteínas produzidas tanto pelo parasito quanto pelo hospedeiro. A identificação e caracterização do repertório de proteínas parasitárias possivelmente envolvidas na sobrevivência e desenvolvimento do parasito são condições essenciais para a elucidação dos princípios que regem aspectos fundamentais da biologia de *Echinococcus spp.*, como o grau de especificidade pelo hospedeiro e a condição de fertilidade ou infertilidade da fase larval assexuada.

Este trabalho tem como objetivo a caracterização *in silico* e *in vitro* de “Expressed protein” (EgrG_000302900.1), “Hypothetical protein” (EgrG_000534900.1), “Papilin” (EgrG_001181950) e “Mastin” (EgrG_000085400.1), identificadas no líquido hidático de cistos férteis de *Echinococcus*.

Posteriormente, serão realizados ensaios funcionais com as proteínas que se apresentarem solúveis após o processo de expressão heteróloga, para a determinação da função biológica desempenhada por cada proteína no contexto da hidatidose em bovinos.

Tabela 1: Características gerais das proteínas selecionadas a partir das análises *in silico*.

Proteína (ID)	Função	Contagem espectral F/I	Pb	AA	Massa (kDA)	Peptídeo sinal?	Domínios (n)
Mastin (EgrG_000085400.1..pep)	Trypsin-like serine protease (Enteropeptidase)	14/0	1371	457	51.5	SIM	Trypsin (1)
Papilin (EgrG_001181950.1..pep)	Serine-type endopeptidase inhibitor activity	32/0	1827	609	66.6	NÃO	Kunitz (8)
Expressed protein (EgrG_000302900.1..pep)	Serine-type endopeptidase inhibitor activity	18/0	1602	534	61.1	SIM	Kunitz (2)
Hypothetical protein (EgrG_000534900.1..pep)	Serine-type endopeptidase inhibitor activity	17/0	225	75	8.3	SIM	Kunitz (1)

MATERIAL E MÉTODOS

Proteínas classificadas como “Expressed protein”, “Hypothetical protein” e também as proteínas “Papilin” e “Mastin”, ainda não caracterizadas em *Echinococcus spp.*, com alta contagem espectral em análises por espectrometria de massas de líquido hidático e presentes apenas em cistos férteis de *E. granulosus*, tiveram sua estrutura éxon-íntron e identidade de sequência proteica confirmadas e analisadas pelo software GeneScan e pela ferramenta PROSITE, respectivamente. A presença de peptídeo sinal foi verificada por intermédio da ferramenta SignalP 4.1. Foram realizadas buscas em bancos de dados de diferentes organismos parasitos (GeneDB e WormBase ParaSite) a fim de determinar os homólogos de cada gene. Análises filogenéticas foram realizadas com o software MEGA6 com o intuito de confirmar a identidade de tais genes e identificar seus ortólogos. Modelagens moleculares para predição da estrutura 3D das proteínas selecionadas foram realizadas mediante as ferramentas Modeller versão 9.8, Phyre2 e I-TASSER.

RESULTADOS E PERSPECTIVAS

A partir das análises *in silico*, selecionamos um gene “Expressed protein” (EgrG_000302900.1), um gene “Hypothetical protein” (EgrG_000534900.1) e o gene “Papilin” (EgrG_001181950), todos com provável função inibitória de proteases; e a proteína “Mastin” (EgrG_000085400.1), uma endopeptidase. Será realizada a amplificação destes genes por PCR e a clonagem e expressão das proteínas em *Escherichia coli*.

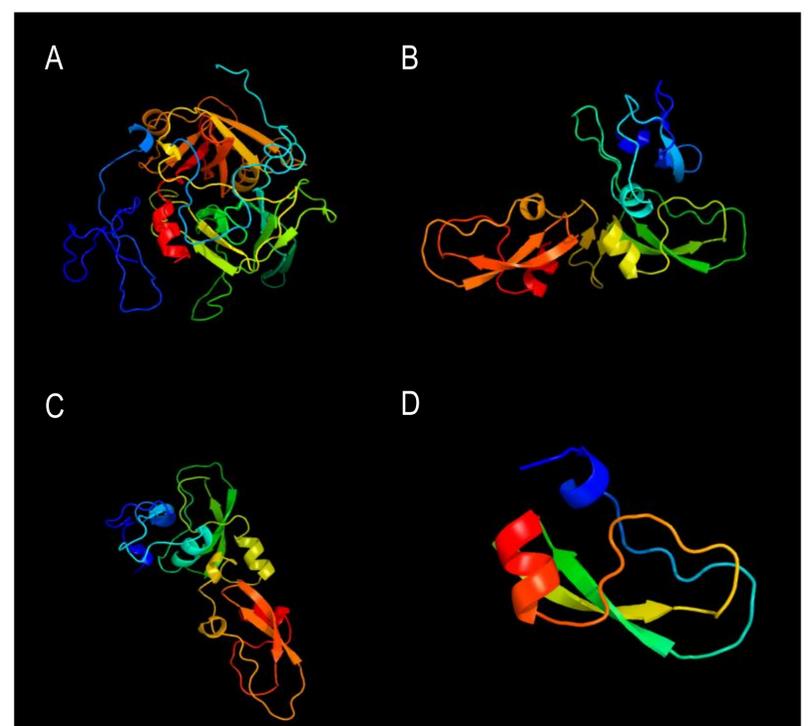


Figura 1: Predição da estrutura tridimensional, por Phyre2, das proteínas selecionadas. **A)** Mastin (EgrG_000085400.1); **B)** Papilin (EgrG_001181950); **C)** Expressed protein (EgrG_000302900.1); **D)** Hypothetical protein (EgrG_000534900.1).