

DETERMINAÇÃO DA ESTRUTURA DA PROTEÍNA LigB DE *Leptospira* TRIDIMENSIONAL SPP.

VÍTOR DA SILVEIRA ALBA¹; ANDRÉ ALEX GRASSMANN²; FREDERICO SCHMITT KREMER³; ALAN JOHN ALEXANDER MCBRIDE⁴

¹LPDI, Núcleo de Biotecnologia, CDTec, UFPel – vitor.s.alba@gmail.com

²LPDI, Núcleo de Biotecnologia, CDTec, UFPel – grassmann.aa@gmail.com

³BIOPRO-LAB, Núcleo de Biotecnologia, CDTec, UFPel – fred.s.kremer@gmail.com

⁴LPDI, Núcleo de Biotecnologia, CDTec, UFPel – alan.mcbride@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose tropical de distribuição global causada por bactérias patogênicas do gênero *Leptospira* (COSTA et al., 2015). Segundo dados reportados pelo Ministério da Saúde (2018), na última década houveram mais de 40 mil novos casos confirmados da doença no Brasil. A doença também afeta outros animais, como bovinos e suínos, assim impactando a produtividade pecuária do país (SANHUEZA et al., 2013).

Deste modo, torna-se necessário o desenvolvimento de novos métodos profiláticos eficientes, como as vacinas (GRASSMANN et al., 2017). Um alvo vacinal que já se demonstra promissor é a proteína LigB (*Leptospiral immunoglobulin like*) (CONRAD et al., 2017). A LigB é uma proteína de membrana externa presente em todas as espécies patogênicas de *Leptospira*. Está relacionada com a interação da bactéria com a matriz extracelular do hospedeiro, desta forma é um fator de virulência chave para o desenvolvimento da doença (MCBRIDE et al., 2009).

Entretanto, pouco se sabe sobre o papel desta molécula na célula. Deste modo, este trabalho se desenvolveu visando conhecer mais sobre a função e estrutura tridimensional da LigB através de uma abordagem *in silico*.

2. METODOLOGIA

A estrutura foi determinada pela plataforma online do software Iterative Threading Assembly Refinement (ITASSER). O programa prediz a estrutura tridimensional de uma sequência de aminoácidos através da técnica de *threading* (YANG et al., 2015), isto é, uma abordagem de determinação estrutural feita através da comparação de porções da sequência de interesse com outras sequências com a estrutura tridimensional já determinada disponíveis no Protein Data Bank (PDB).

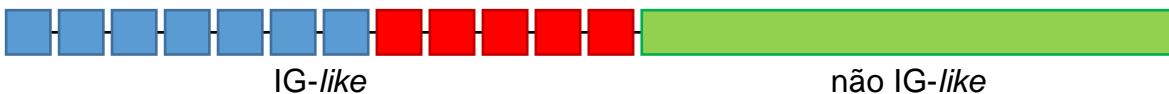


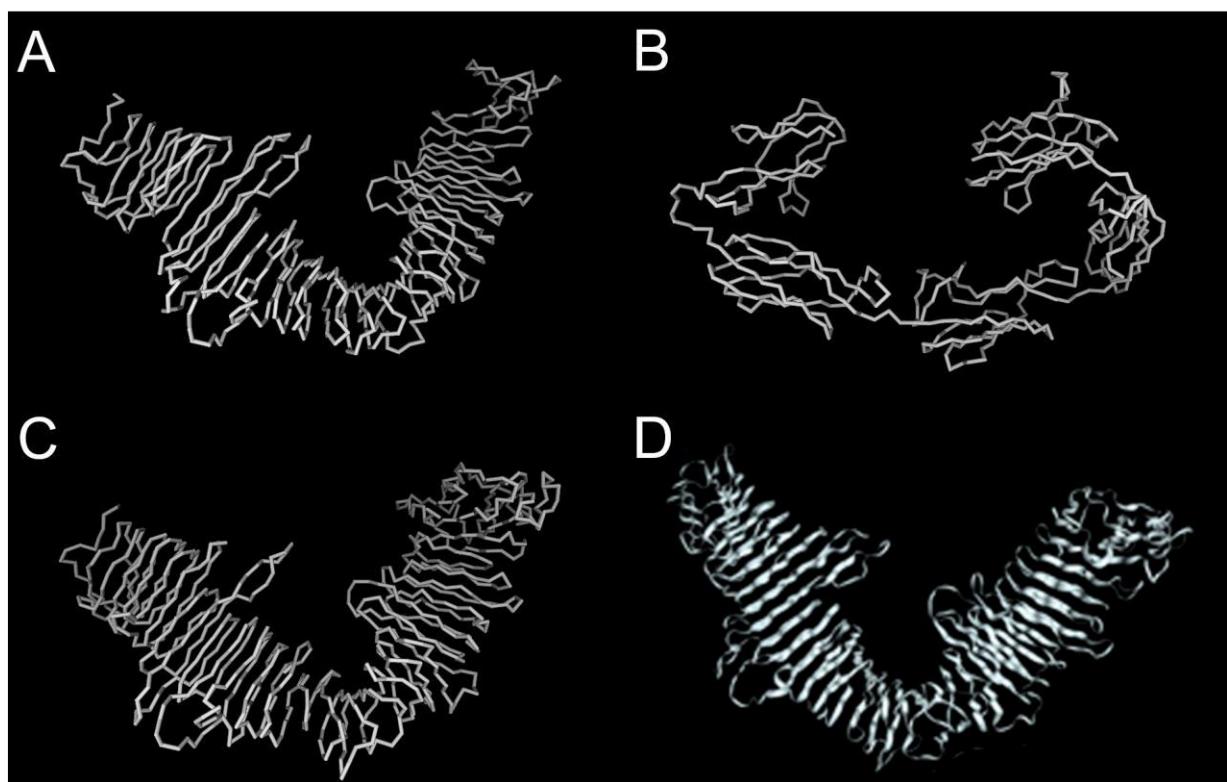
Figura 1 – Esquema representativo da LigB e de seus domínios. Os quadrados em azul e vermelho representam os domínios IG-like e o retângulo verde representa o não IG-like. O azul é a primeira porção da divisão, o vermelho a segunda e o verde a terceira.

Contudo, o servidor online do ITASSER tem uma limitação na submissão do tamanho da proteína, não podendo ultrapassar de 1000 resíduos de aminoácidos. Deste modo, considerando que a LigB possui 1891 aminoácidos, a proteína foi subdividida em três porções para que o programa pudesse realizar o trabalho. Estas porções foram dos resíduos 1-661, 662-1118 e 1119-1891 que correspondem respectivamente aos domínios IG-like 1-7, IG-like 8-12 e ao domínio não IG-like (carboxiterminal) (Figura 1).

Assim, a sequência da LigB foi obtida pelo banco de dados de proteínas do NCBI, cortada e submetida ao servidor do ITASSER e os resultados obtidos estão a seguir.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O principal modelo predito pelo programa para cada parte da molécula está representado na imagem abaixo junto com a proteína com maior convergência (Fig. 2 D) utilizada pelo programa para modelar a primeira parte (Fig. 2 A) e a



última parte da proteína (Fig. 2 C).

Figura 2 – Representação 3D das proteínas. A: LigB 1-7; B: LigB 8-12; C: porção não IG-like da LigB; D: Monômero da proteína RsaA de *C. crescentus*

A alta convergência da LigB com as proteínas de S-Layer RsaA de *Caulobacter crescentus* (PDB: 5N8P) e rSbsC de *Geobacillus stearothermophilus* (PDB: 4UIC) pode indicar que a molécula também desempenha uma função estrutural na bactéria, formando uma estrutura de membrana denominada S-Layer.

O S-Layer é uma camada superficial que reveste toda a bactéria, como demonstra a imagem 3, composto de monômeros de glicoproteínas. Está

presente em diversos grupos taxonômicos de microrganismos e tem como principal função dar uma maior rigidez à membrana celular (PUM et al. 2014).

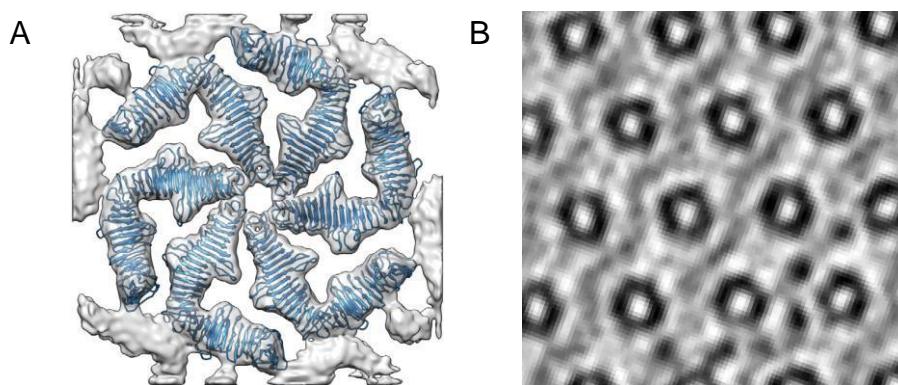


Figura 3 – S-Layer de *C. crescentus*. A: hexâmero formado pelos monômeros de RsaA; B: S-Layer formado pelos hexâmetros de RsaA (BHARAT et al., 2017).

4. CONCLUSÕES

Os dados demonstram uma possível correlação entre a LigB com proteínas de S-Layer, uma estrutura que até o momento não foi descrita presente em leptospiras. Apesar dos resultados serem interessantes, ainda é necessário realizar um refinamento dos dados obtidos por outras ferramentas de bioinformática para se ter uma maior confiabilidade nas estruturas geradas pelo ITASSER. Além disso, pode-se realizar ensaios *in vitro*, como o crio-eletro-tomografia, para comprovar a existência do S-Layer em leptospiras.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BHARAT, Tanmay A. M. et al. Structure of the hexagonal surface layer on *Caulobacter crescentus* cells. **Nature Microbiology**, v. 17059, n. April, p. 1–6, 2017.

CONRAD, Neida L. et al. LigB subunit vaccine confers sterile immunity against challenge in the hamster model of leptospirosis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 1–20, 2017.

COSTA, F. et al. Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 9, p. 0–1, 2015.

GRASSMANN, A. A.; SOUZA, J.; MCBRIDE, A. J. A. A universal vaccine against leptospirosis: Are we going in the right direction? **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 8, n. MAR, p. 1–8, 2017.

MCBRIDE, A. J. A. et al. Genetic diversity of the Leptospiral immunoglobulin-like (Lig) genes in pathogenic *Leptospira* spp. **Infect Genet Evol**. 2009 March ; 9(2): 196.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, Óbitos por Leptospirose de 2000 a 2018. Acessado em 27 ago. 2018. Online. Disponível em: <http://portalsms.saude.gov.br/saude-de-a-z/leptospirose/9805-situacao-epidemiologica-dados>

SANHUEZA, J. M.; HEUER, C.; WEST, D. Contribution of Leptospira, Neospora caninum and bovine viral diarrhea virus to fetal loss of beef cattle in New Zealand. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 112, n. 1–2, p. 90–98, 2013.

YANG, J.; YAN, R.; ROY, A.; XU, D.; POISSON, J.; ZHANG, Y.; The I-TASSER Suite: Protein structure and function prediction. **Nature Methods**, 12: 7-8, 2015.

PUM, Dietmar; SLEYTR, Uwe B. Reassembly of S-layer proteins. **Nanotechnology**, [s. l.], v. 25, n. 31, 2014.