

INTRODUÇÃO

Enzimas glicolíticas, como a enolase, têm sido descritas como proteínas multifuncionais complexas, podendo desempenhar funções diferentes da sua função primária, ditas *moonlighting* [1]. Em *Echinococcus granulosus*, o parasito causador da hidatidose cística, uma isoforma da enolase (EgEno1) está entre as proteínas intracelulares detectadas nos produtos de excreção/secreção e em componentes de interface parasito-hospedeiro [2]. Em *Homo sapiens*, a enolase está presente em três isoformas: α -enolase (não-neuronal), β -enolase (muscular) e γ -enolase (neuronal). A α -enolase é a isoforma predominantemente expressa em todo o organismo e é a ortóloga da EgEno1. A multifuncionalidade da enolase em *H. sapiens* tem sido amplamente descrita, porém, ainda não está claro se estas funções são evolutivamente conservadas. Para investigar se a multifuncionalidade da enolase é conservada evolutivamente, redes de interação proteína-proteína (IPP) de diferentes organismos-modelo foram projetadas com o intuito de obter um panorama geral dos possíveis processos não glicolíticos nos quais ela está envolvida e que poderão servir de ponto de partida para estudos funcionais em *E. granulosus*.

OBJETIVOS

- ➔ Projetar redes de interação de proteínas para as enolases dos organismos-modelo *Saccharomyces cerevisiae*, *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster* e *H. sapiens*.
- ➔ Avaliar os possíveis processos não-glicolíticos nos quais as enolases podem estar envolvidas, a partir de análises de modularidade, centralidade, e enriquecimento funcional para todas as redes geradas.

METODOLOGIA

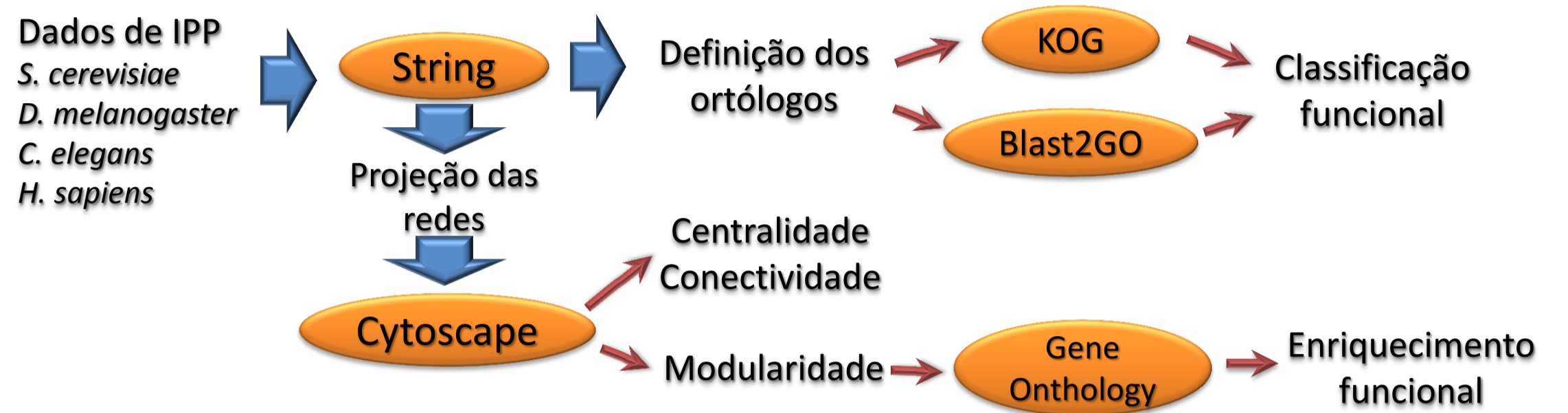


Figura 1. Metodologia. A projeção das redes de IPP para os organismo-modelo foi realizada utilizando o banco de dados String (www.string-db.org). Os dados gerados foram analisados através de duas abordagens. No software Cytoscape (versão 2.8.2), análises de centralidade, modularidade e enriquecimento funcional das redes. A classificação funcional dos ortólogos presentes nas redes também foi realizada. Elipses em laranja: softwares utilizados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sub-redes (*clusters*) de proteínas altamente conectadas entre si, foram obtidos por análise de modularidade. Para cada cluster foi realizado o enriquecimento funcional através de dados disponíveis no Gene Ontology (GO) (Figura 2).

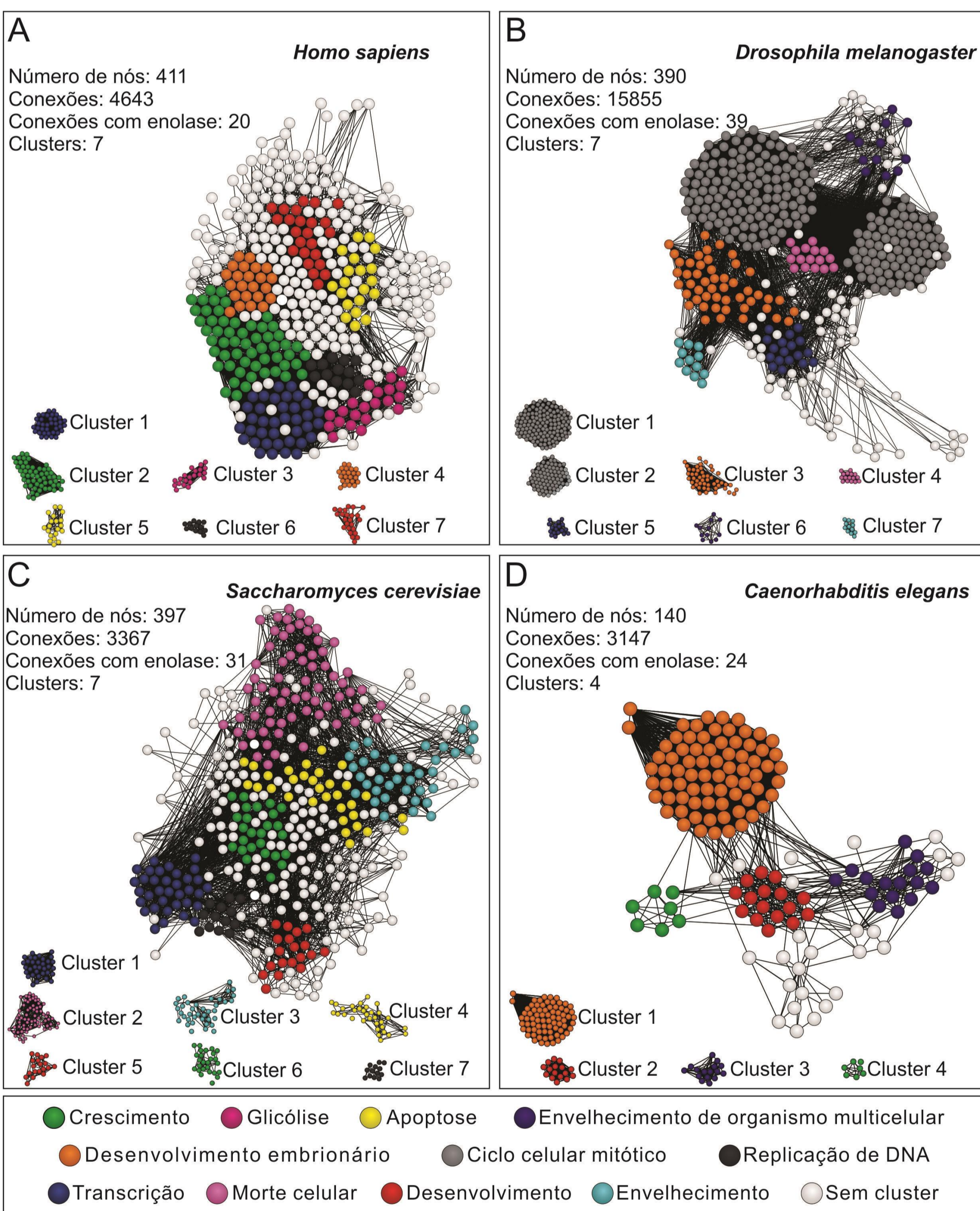


Figura 2. Enriquecimento funcional dos clusters das redes de IPP dos organismos modelo. A figura mostra as redes de IPP projetadas para *H. sapiens* (A), *D. melanogaster* (B), *S. cerevisiae* (C) e *C. elegans* (D). Os clusters estão coloridos de acordo com sua categoria funcional (conforme legenda). O número total de nós, conexões, número de primeiros vizinhos da enolase e o número de clusters estão descritos para cada rede.

CONCLUSÕES

Através deste estudo foi possível realizar uma comparação do interatoma da enolase de quatro organismos-modelo. Alguns padrões de interação de proteínas evolutivamente conservados foram identificados e o enriquecimento funcional das redes sugere que a enolase pode estar regulando diferentes vias metabólicas. Identificamos alguns processos comuns entre os diferentes interatomas, incluindo o desenvolvimento. As proteínas identificadas relacionadas a este processo, como a nucleosídeo-difosfato-cinase e a piruvato-quinase, são interessantes para futuros experimentos de interação com a enolase de *E. granulosus*. Os dados de interações conservados nos organismos-modelo poderão ser válidos para a EgEno1 e serão alvo de estudos específicos.

Para a comparação das redes dos diferentes organismos, foi feita uma busca dos ortólogos presentes nas diferentes redes (Figura 3). Apenas proteínas com identidade maior que 50% foram consideradas ortólogas. Interessantemente, através de análise com Blast2GO e do KOG, identificou-se vários ortólogos não relacionados à glicólise.

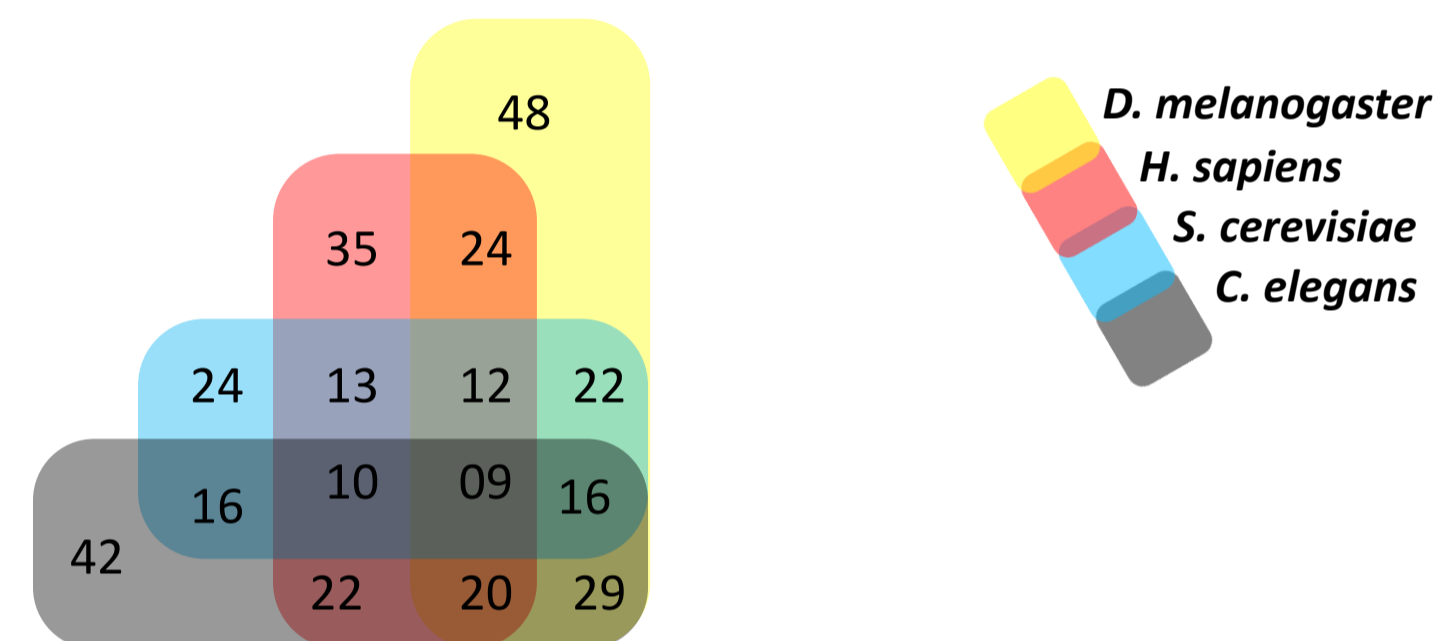


Figura 3. Diagrama de Venn mostrando o número de ortólogos compartilhados entre os organismos modelo. Cada organismo modelo está representado por uma cor, conforme a legenda à direita.

Adicionalmente, através da análise de centralidade e conectividade foi possível identificar as proteínas mais importantes para a manutenção da estabilidade das redes. Em todas as redes, as enolases são de fundamental importância para a conectividade entre diferentes módulos, sendo consideradas *hubs*. Outra informação avaliada foi *betweenness*, que indica número de caminhos mais curtos a partir de todos os vértices para todos os outros passando por um determinado nó. Nós com alto valor de *betweenness* foram considerados *bottleneck*. Outros ortólogos importantes para a estabilidade das redes estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Proteínas ortólogas com características de *hub* e *bottleneck*, compartilhadas entre os organismos

Proteína	<i>H. sapiens</i>	<i>D. melanogaster</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. elegans</i>
Frutose-bifosfato-aldolase	ALDOA		FBA1	
Glicose-6-fosfato -isomerase	GPI		PGI1	
Nucleosídeo difosfato cinase	NME1	awd	YNK1	
Subunidade maior da RNA-polimerase II	POLR2L	Rpb10	RPB2	
Transaldolase	TALDO1		TAL1	
DNA-polimerase delta		FBpp0075277	POL3	
Piruvato-carboxilase		CG1516	PYC2	
Transcetolase	TKT	CG8036	TKL1	
Succinato-desidrogenase		SdhB	SDH2	
Gliceraldeído-3-fosfato - desidrogenase		Gapdh2	TDH2	
Ubiquitina	UBC		UBI4	
Fator de alongamento gama		Ef1gamma	TEF4	
Proteína ribossômica, subunidade menor		RpS23		rps-23

PERSPECTIVAS

➔ Para validação experimental de pelo menos algumas das interações funcionais preditas entre a EgEno1 e outras proteínas, serão realizados ensaios de *cross-linking* mediado por Sulfo-SBED e coimunoprecipitação com a versão recombinante da EgEno1, já produzida em nosso laboratório.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Sriram, G *et al.* (2005). Single-gene disorders: what role could moonlighting enzymes play? *American journal of human genetics*. 76: 911–924.
- [2] Lorenzatto, KR *et al.* (2012). Fructose-bisphosphate aldolase and enolase from *Echinococcus granulosus*: Genes, expression patterns and protein interactions of two potential moonlighting proteins. *Gene*. 506: 76–84.

Apoio financeiro:
CNPq, CAPES e FAPERGS.