Caracterização das Proteínas de Estresse Universal de Echinococcus granulosus sensu stricto

Kayan Mostardeiro¹, Arnaldo Zaha²

¹ Aluno de graduação, curso Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, Brasil ²Departamento de Biologia Molecular e Biotecnologia, Instituto de Biociências, Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, Brasil.

Introdução

Echinococcus granulosus (Cestoda, Platyhelminthes) é um parasito de grande importância referente à saúde humana e economia global, por causar uma zoonose conhecida por hidatidose e por comprometer a viabilidade de muitos produtos provenientes da pecuária. Proteínas com domínio USP (Universal Stress Proteín) são conhecidas por promover em bactérias, fungos, protistas e plantas, a habilidade de responder a estresses como falta de alimento, temperaturas elevadas, resistir à atividade de químicos tóxicos, entre outros estresses. A presença destas proteínas em E. granulosus sugere o seu possível papel na resposta às condições desfavoráveis que enfrenta o parasito nos diferentes estágios do ciclo de vida. O objetivo deste trabalho foi analisar os níveis de expressão dos genes que codificam para as proteínas de estresse universal de E. granulosus (EgUSP).

Metodologia

A forma pré-adulta (protoescólices) de *E. granulosus* foi submetida a estresses por peróxido de hidrogênio e pepsina em diferentes concentrações e intervalos de tempo. O desenho de *primers* específicos para os genes das *EgUSP* foi realizado com o software Vector NTI. Os níveis de expressão gênica foram analisados por PCR em tempo real com o aparelho 7500 Fast da Applied Biosystems.

Resultados

Foram realizados tratamentos com peróxido de hidrogênio (0mM a 80mM) (Figura 1, com 48hs de cultura) e pepsina (2mg/mL) (30min até 1h). Foi observado que seis dos sete *primers* desenhados amplificaram o produto gênico esperado de forma específica (Figura 2). A banda de amplificação do transcrito EgrG_8734 não foi visível em PCR convencional (Figura 2), mas sim foram identificadas curvas de amplificação na PCR quantitativa. Os níveis de expressão gênica até agora obtidos mostram que quatro dos genes testados respondem ao tratamento com peróxido de hidrogênio com um aumento nos níveis de expressão (Figura 3, intervalos de tempo de 30min, 2hs, e 6hs, barras pretas e brancas). A expressão invariável dos outros dois genes sugere que provavelmente estejam envolvidos em alguma outra função não relacionada ao estresse, como por exemplo de adesão celular já descritas em bactérias. Por outro lado, não foram observadas diferenças significativas no tratamento com pepsina.

Figura 1. Indução ao estresse por H_2O_2 em protoescólices de *E. granulosus*.

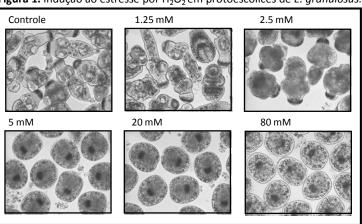


Figura 2. Primers específicos para as EgUSP.

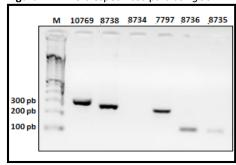
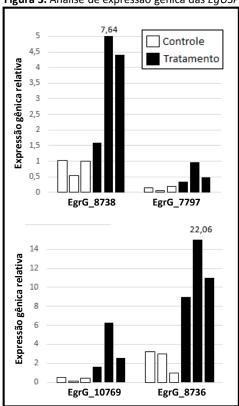


Figura 3. Análise de expressão gênica das EgUSP.



Conclusão

Vários genes das *EgUSP* são expressos em condições de estresse específicas, indicando seu importante papel na resposta a condições extremas do meio ambiente externo. Análises usando mais réplicas biológicas estão sendo realizadas para confirmar o observado. Como perspectiva, o uso de outros agentes de estresse, como aqueles que atualmente são usados como antihelminticos (praziquantel), poderia contribuir para compreender ainda mais o papel das *EgUSP*.

Apoio: FAPE





