

PROTEASSOMA 26S: ANÁLISE DE HOMOLOGIA ENTRE AS SUBUNIDADES RPN1 E RPN2 DE *Biomphalaria glabrata* E *Schistosoma mansoni*.

Behânia Ribeiro de Almeida, Wagner Miranda Barbosa, Mariana Drummond Costa Ignacchiti, Olavo dos Santos Pereira Júnior

Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias, UFES. Alto Universitário s/nº Alegre/ES – 29.500-000, olavouspjr@uol.com.br.

Resumo - Inúmeras proteases de uma grande variedade de organismos parasitos têm sido caracterizadas em níveis moleculares e celulares. A atuação destas proteases tem sido proposta em diversos processos biológicos, tais como a invasão e saída de células hospedeiras, encistamento, catabolismo de proteínas do hospedeiro, diferenciação e progressão do ciclo celular, citoaderência e evasão da resposta imune do hospedeiro. Dentre essas proteases, merece especial destaque o complexo proteolítico dependente de ubiquitina e ATP, denominado de proteassoma 26S. Assim esse trabalho teve como objetivo principal avaliar o grau de identidade entre as subunidades RPN1 e RPN2 entre moluscos da espécie *Biomphalaria glabrata* e o parasito *Schistosoma mansoni*. Foi observada a identidade de 51 e 27% entre as subunidades RPN1 e RPN2, respectivamente, entre os organismos, o que indica a presença dessa estrutura no molusco, e todas as importantes funções que ela possivelmente auxilia para no desenvolvimento desse invertebrado.

Palavras-chave: Proteassoma 26S, *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni*.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas

Introdução

A biologia do parasito *Schistosoma mansoni* apresenta um complexo plano de desenvolvimento envolvendo permutações de um ambiente aquático para um outro no hospedeiro intermediário invertebrado e culminando com sua a instalação em um hospedeiro vertebrado definitivo (Coura & Amaral., 2004). Com relação ao hospedeiro intermediário, de dez espécies e uma subespécie do gênero *Biomphalaria* já descritas, três delas são caracterizadas como hospedeiros intermediários naturais de importância epidemiológica; *B. glabrata*, *B. tenagophila*, e *B. straminea*. Essas três espécies estão disseminadas em nosso território, sendo que os moluscos da espécie *B. glabrata* são caracterizadas os hospedeiros intermediários mais importantes do parasito no Brasil (Coura & Amaral., 2004).

Apesar de todos os avanços no conhecimento da biologia desse hospedeiro intermediário (El-Ansary et al., 2007), muitos aspectos da interação molusco-parasito ainda estão por ser elucidados, como por exemplo: a influência fenotípica e (Lockyer et al., 2006). Desta forma, a ampliação destes estudos poderá contribuir para o melhor entendimento de aspectos imunológicos, bioquímicos, e fisiológicos durante o desenvolvimento de *S. mansoni* em seu hospedeiro intermediário (El-Ansary et al., 2006).

Inúmeras proteases de uma grande variedade de organismos parasitos têm sido caracterizadas em níveis moleculares e celulares. A atuação destas proteases tem sido proposta em diversos processos biológicos, tais como a invasão e saída de células hospedeiras, encistamento, catabolismo de proteínas do hospedeiro, diferenciação e progressão do ciclo celular, citoaderência e evasão da resposta imune do hospedeiro. (Klemba e Goldberg., 2002). Com acentuado grau de destaque entre essas proteases, o complexo proteolítico ubiquitina-proteassoma 26S é responsável pela degradação de proteínas mal formadas, proteínas de meia vida curta, com as que regulam o ciclo celular, fatores de crescimento, receptores de superfície e proteínas envolvidas no processamento de antígenos para o MHC classe I (Tanaka k., 1998).

O proteassoma 26S (Figura 1), é formado por um centro catalítico denominado de proteassoma 20S ou partícula catalítica 20S (PC20S) e por complexos reguladores, sendo o mais bem compreendido o complexo denominado de 19S ou partícula regulatória 19S (PR19S) (Glickman, M.A, et al., 2005). O complexo regulatório 19S, subdividido em base e tampa, é composto de pelo menos 17 subunidades, sendo que a ligação desse complexo às extremidades do centro catalítico 20S é reversível e dependente de ATP (Glickman et al, 2005). A base é formada por duas subunidades Rpns (não ATPásicas) denominadas

de Rpn1 e Rpn2, fundamentais na estruturação desse complexo (Rubin et al, 1998).

Assim, este trabalho teve como objetivo principal avaliar o grau de homologia entre as subunidades RPN1 e RPN2 de *B. glabrata*, com as mesmas subunidades do parasito *S. mansoni*, com auxílio de ferramentas de bioinformática.

Complexo 19S

Complexo 26S

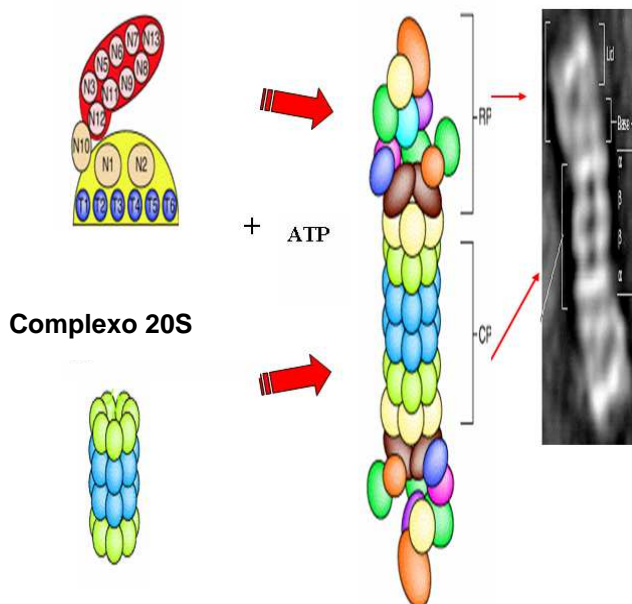


Figura 1 - Formação do complexo proteolítico 26S (C), por intermédio da associação entre o complexo regulatório 19S (A) e o proteassoma 20S (B). D - microscopia eletrônica do proteassoma 26S de leveduras. Essa associação é um evento dependente de ATP

Metodologia

As seqüências avaliadas BgRPN1 (51500062); BgRPN2 (nº156759728), SmRPN1(nº CAZ27678.1) e SmRPN2 (nº CAZ36803.1) foram submetidas a busca de homologia entre si, com nucleotídeos e aminoácidos com o auxílio do algoritmo (www.ncbi.nlm.nih.gov).

Também foi utilizado o algoritmo PFAM (www.sanger.ac.uk) para identificar os domínios conservados nas seqüências previstas de aminoácidos, e o programa ClustalW (www.ebi.ac.uk) para auxiliar no alinhamento das seqüências de aminoácidos.

Nº - número de acesso das seqüências no NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov.br)

Resultados

As análises em banco de dados (NCBI) demonstraram a presença de uma seqüência de nucleotídeos para as subunidades RPN1 e RPN2 de *B. glabrata*. Após a predição das seqüências de aminoácidos, foi observada a presença dos domínios característicos para subunidades do tipo RPN, como pode ser observado nas figuras 2 e 3, respectivamente.

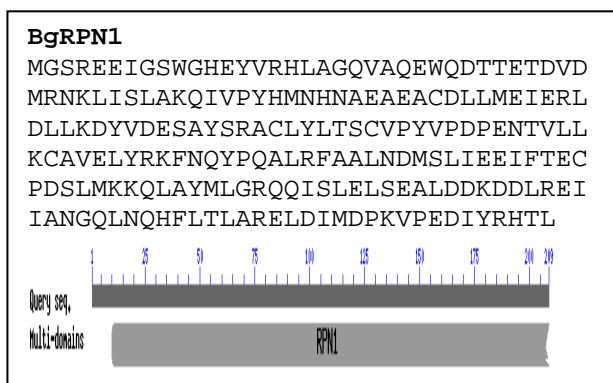


Figura 2 – Seqüência prevista de aminoácidos para a subunidade RPN1 de *Biomphalaria glabrata*, com a indicação do domínio característico para este tipo de proteína.

Com relação a comparação das seqüências previstas de aminoácidos entre as subunidades BgRPN1 e BGRPN2, foi conservado um grau de conservação de apenas 3%, entre os fragmentos analisados. Entre as subunidades BgRPN1 e SmRPN1, foi conservação um grau de conservação de 51% entre os fragmentos avaliados. Com relação aos fragmentos de BgRPN2 e SmRPN2, foi observado 27% de similaridade. As figuras 4, 5 e 6 ilustram essas análises, respectivamente.

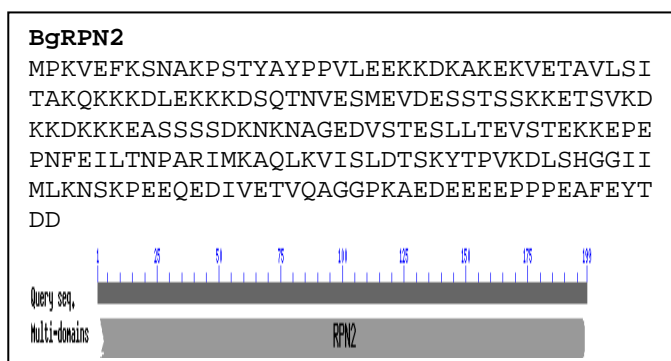


Figura 3 – Seqüência prevista de aminoácidos para a subunidade RPN2 de *Biomphalaria glabrata*, com a indicação do domínio característico para este tipo de proteína.

tornou claro que esta organela estava envolvida principalmente na degradação de proteínas extracelulares, e desta forma suas proteases não poderiam ser específicas ao substrato (GLIKMAM & CIECHANOVER, 2002). A descoberta da ubiquitinação de substratos protéicos e do sistema proteassoma 26S deu início a novas e importantes perspectivas sobre os mecanismos de proteólise e sua importância para o desenvolvimento celular (CASTRO-BORGES, W, et al, 2007).

Os dados apresentados neste trabalho demonstram a presença do complexo regulatório 19S, em moluscos da espécie *B. glabrata*. Esses achados refletem a importância do proteassoma 26S na proteólise celular, pois esta estrutura catalítica é encontrada desde organismos inferiores, com as arqueobactérias, até superiores, como os mamíferos (Glickman, M.A, et al., 2005). Embora as sequências avaliadas não estejam completas, a predição de seus aminoácidos demonstrou a presença de uma matriz de leitura aberta, tanto para BgRpn1, quanto para BgRPN2, o que nos possibilitou a busca de homologia e a confirmação de serem subunidades RPN do complexo proteolítico proteassoma 26S de *B. glabrata*.

As análises de homologia entre as sequências parciais preditas de aminoácidos de *B. glabrata* e *S. mansoni*, para as subunidades RPN1 e RPN2 foram de 51 e 27% respectivamente. Este fato está relacionado a presença dos domínios característicos para as subunidades RPN, que mesmo pertencentes a mesma família protéica possuem diferenças entre si. O que pode ser observado quando comparamos as sequências BgRPN1 e BgRPN2 de *B. glabrata*, onde a identidade foi de apenas 3%.

Conclusão

A presença de subunidades RPNs em *B. glabrata*, indica a presença da estrutura catalítica proteassoma 26S, nesse organismo. O que nos permite inferir, que as funções desempenhadas por esse complexo proteolítico também são importantes para o desenvolvimento dessa espécie.

Referências

CALDEIRA, R. L.; JANNOTTI-PASSOS, L. K.; CARVALHO, O. S. Molecular epidemiology of Brazilian *Biomphalaria*: A review of the identification of species and the detection of infected snails. **Acta Tropica**, Basel, v. 111, p. 1-6. 2009.

CARVALHO, O. S.; JANNOTTI-PASSOS, L. K.; MENDONÇA, C. L. F. G.; CARDOSO, P. C. M.;

CALDEIRA, R. L. **Moluscos de importância médica no Brasil**. Série Esquistossomose nº. 7. Belo Horizonte, Centro de Pesquisas René Rachou/Fiocruz, 2005. 52p

CASTRO-BORGES, W.; CARTWRIGHT, J.; ASHTON, P.D.; BRASCHI, S.; GUERRA – SA, R.; RODRIGUES, V.; WILSON, R.A.; CURWEN, R.S. The 20S proteasome of *Schistosoma mansoni*: a proteomic analysis. **Proteomics**, v. 7, 1065-1075, 2007.

COURA, J. R; AMARAL, R. S. Epidemiological and control aspects of schistosomiasis in Brazilian endemic areas. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. 99 (Suppl I): 13-19, 2004.

EL-SAYED, M. N. A. Advances in schistosomose genomics. **Trends Parasitology**. 20(7): 154-588, 2004

FELSENSTEIN, J. Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. **Evolution**, v. 39, n. 4, p. 783-791, Jul., 1985.

FERNANDES-MATIOLI, F. M. C. Noções de filogenética molecular. **Biológico**. São Paulo, v. 63, n. 1/2, p. 37-38, 2001.

GLICKMAN, M. H.; RAVEH, D. Proteasome plasticity. **FEBS Letters**, v. 579, p. 3214–3223, 2005.

GLICKMAN, M. H.; CIECHANOVER, A. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. **Physiol Rev**, 82(2): 373-428, 2002.

GOLDBERG, A. L., AKOPIAN, T. N., KISSELEV, A. F., LEE, D. H., ROHRWILD, M. New insights into the mechanisms and importance of the proteasome in intracellular protein degradation. **Biological Chemistry**, v. 378, p. 131–140, 1997.

GUERRA-SÁ, R.; CASTRO-BORGES, W.; EVANGELISTA, E. A. B.; KETTELHUT, I. C.; RODRIGUES, V. *Schistosoma mansoni*: Functional proteasomes are required for development in the vertebrate host. **Experimental Parasitology**, v. 109, n. 4, p. 228-236, 2005.

TANAKA. K.; CHIBA. T. The proteasome: a protein-destroying machine. **Genes Cells**, 3(8): 499-510, 1998.