

Caracterização das proteínas 14-3-3 ϵ 1 e 14-3-3 ϵ 2 do parasito *Echinococcus granulosus*

Bruna Valandro Meneghetti, Aline Teichmann, Karina Mariante Monteiro, Henrique Bunselmeyer Ferreira, Arnaldo Zaha.

E-mail: bvalandromeneghetti@gmail.com

Laboratório de Biologia Molecular de Cestódeos & Laboratório de Genômica Estrutural e Funcional, Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

A hidatidose cística é uma doença infecciosa causada pelo cestóide *Echinococcus granulosus*, sendo que o estabelecimento e a manutenção do cisto hidático (forma larval patogênica) durante a infecção crônica envolve a participação de diversas proteínas que medeiam processos de interação parasito-hospedeiro. As proteínas 14-3-3 têm sido descritas como moléculas de grande relevância na biologia celular de eucariotos, estando envolvidas em diversos processos, incluindo regulação do ciclo celular, apoptose, regulação da transcrição e sinalização celular. Em *E. granulosus*, foram identificadas 4 isoformas de proteínas 14-3-3 (duas isoformas ϵ e duas isoformas ζ). As duas isoformas ϵ de 14-3-3 de *E. granulosus* (Eg14-3-3 ϵ 1 e Eg14-3-3 ϵ 2) foram identificadas em análises proteômicas, estando presentes em protoescolices (pré-adultos) e nos seus produtos de secreção/excreção em cultura. Isso sugere que as proteínas 14-3-3 de *E. granulosus* devem desempenhar um papel potencialmente importante nessa relação parasito-hospedeiro. A clonagem das sequências codificadoras das proteínas Eg14-3-3 ϵ 1 e Eg14-3-3 ϵ 2 foram realizadas em dois vetores plasmidiais distintos (pET-26b e pGEX-TEV, respectivamente), para permitir a expressão em *Escherichia coli* da proteína Eg14-3-3 ϵ 1 recombinante no espaço periplásmico com cauda de histidina e purificação por cromatografia de afinidade com resina de níquel, e a expressão da proteína Eg14-3-3 ϵ 2 recombinante no citoplasma, em fusão com a proteína GST e purificação por cromatografia de afinidade com resina de glutationa-Sepharose 4B. A identificação de proteínas de extratos de protoescolices que interagem com a 14-3-3 ϵ 1 recombinante foi realizada através de ensaios de *cross-linking* mediados por Sulfo-SBED, para marcação de ligantes com biotina e recuperação por cromatografia de afinidade com avidina. As proteínas de interação estão sendo identificadas por espectrometria de massas (LC-MS/MS). Até o momento, foram identificadas 17 proteínas, as quais estão envolvidas em funções biológicas significativas para o parasito, como, por exemplo, organização de citoesqueleto, resistência a estresse e processos metabólicos.

Apoio: PROBIC-FAPERGS