

BUSCA POR HOMÓLOGAS À PROTEÍNA HIPOTÉTICA XP_001613425.1 DE *Plasmodium vivax* SAL- 1 UTILIZANDO O BASIC LOCAL ALIGNMENT SEARCH TOOL – BLAST

SEARCH FOR HOMOLOGISTS OF HYPOTHETICAL PROTEIN XP_001613425.1 DE *PLASMODIUM VIVAX* SAL- 1 USING BASIC LOCAL ALIGNMENT RESEARCH TOOL - BLAST

¹LIMA, Mayara Paula Moura ²GARCIA, Anderson

¹Discente do Curso de Ciências Biológicas – Faculdades Integradas de Ourinhos - FIO/FEMM

²Professor Orientador - Curso de Ciências Biológicas – Faculdades Integradas de Ourinhos - FIO/FEMM

RESUMO

Plasmodium vivax é um protozoário que é transmitido ao homem através da picada do mosquito do gênero *Anopheles*. Este protozoário é responsável pela malária, uma doença que se desenvolve em países emergentes e de clima tropical, e tem por sintomas; febre, tremores e aceleração dos batimentos cardíacos. O entendimento dos processos celulares e moleculares deste parasito, e principalmente a elucidação da função de proteínas e genes anotados como hipotéticos em seu genoma podem ajudar a encontrar alvos moleculares para fármacos contra esta doença. Diante disto, o presente trabalho teve como objetivo prever a função da proteína hipotética XP_001613425.1 de *Plasmodium vivax* Sal – 1. Para isto foi realizada uma busca por genes que codificam proteínas hipotéticas no cromossomo 1 e escolhida aleatoriamente a proteína alvo do estudo. Para análise de homologia, foi utilizada a ferramenta Basic Local Alignment Search Tool - BLAST. Os resultados da análise comparativa mostraram que a sequência primária de XP_001613425.1 possui grau de homologia de 54% a 80% a com a enzima RNA helicase, de *Plasmodium cynomolgi* strain B, *Plasmodium berghei* strain ANKA e *Plasmodium falciparum* IGH-CR14. De acordo com as análises realizadas neste trabalho, é possível considerar que a proteína hipotética XP_001613425.1 de *Plasmodium vivax* Sal – 1, possa estar relacionada com o metabolismo do RNA, de forma a atuar como uma RNA helicase.

Palavras-chave: *Plasmodium vivax*. Proteínas Hipotéticas. RNA Helicase. Homologia.

ABSTRACT

Plasmodium vivax is a protozoan that is transmitted to man through the bite of the fly of the genus *Anopheles*. This protozoan is responsible for malaria disease that develops in emerging countries and tropical climate, and has symptoms; fever, tremors and acceleration of heartbeat. The understanding of the cellular and molecular processes of this parasite, and especially the elucidation of the function of proteins and genes annotated as hypothetical in its genome can help to find molecular targets for drugs against this disease. The objective of this study was to predict the function of the hypothetical XP_001613425.1 protein of *Plasmodium vivax* Sal - 1. Was performed a search for genes that encode hypothetical proteins on chromosome 1 and randomly selected the protein hypothetical XP_001613425.1. For the homology analysis, the Basic Local Alignment Search Tool - BLAST was used. The results of the comparative analysis showed that the primary sequence of XP_001613425.1 has a degree of homology of 54% to 80% with the enzyme RNA helicase of *Plasmodium cynomolgi* strain B, *Plasmodium berghei* strain ANKA and *Plasmodium falciparum* IGH-CR14. According to the analyzes carried out in this work, it is possible to consider that the hypothetical XP_001613425.1 protein of *Plasmodium vivax* Sal - 1 may be related to RNA metabolism in order to act as an RNA helicase.

Keywords: *Plasmodium vivax*. Hypothetical Protein. RNA-helicase. Homology.

INTRODUÇÃO

Segundo Lodish et al. (2014) *Plasmodium*, é um gênero de protozoários, que parasitam mosquitos do gênero *Anopheles*. Estes parasitas podem ser transmitidos ao homem pela fêmea deste mosquito podendo causar a malária humana. A malária

é uma doença relatada desde tempos antigos, com mais de quatro mil anos de existência e afeta 10% da população mundial, causando alta incidência de morte, aproximadamente 863 mil por ano. O relato anual de casos de infecção parasitária por *Plasmodium spp* são cerca de 300 a 500 milhões. A doença é considerada uma emergência epidemiológica, pois a malária é um problema de saúde pública em mais de 90 países.

A malária causada pelas espécies de *Plasmodium*, é também conhecida como paludismo ou maleita e além de ser transmitida pela picada do mosquito *Anopheles*, a doença é também transmitida de homem para homem. O parasito no mosquito *Anopheles* é encontrado no estomago e nas glândulas salivares, já no homem, é possível encontrá-lo nos hepatócitos e nas hemácias. O homem sempre será hospedeiro intermediário, e o mosquito, por outro lado é hospedeiro definitivo, e desta maneira o ciclo é conhecido como heteroxênico (NEVES et al.,1998).

Existem quatro espécies de *Plasmodium*: o *P. falciparum* (a mais patogênica, comum na África, Nova Guiné e Haiti); o *P. vivax* (tem ampla distribuição geográfica, inclusive em ambientes de climas temperados); *P. ovale* (comum da África, onde vence o *P.vivax* em ocorrência); e por fim, o *P. malariae* (em regiões tropicais da África, no Oriente e no Ocidente)

Um estudo feito por Shen et al. (2015) verificou o genoma completo de *P.vivax* e revelou que o seu conteúdo genético e metabólico é muito semelhante com o de outros *Plasmodium*, mas que *P. vivax* apresenta novas famílias de genes e também outros meios de invasão que ainda são desconhecidos. Além disso, aproximadamente 40% das proteínas de *Plasmodium vivax* permanecem ainda sem a identificação de sua função, recendo assim a denominação de proteínas hipotéticas. A predição da função dessas proteínas é de extrema importância, pois as informações que ainda não foram descobertas contribuem para a elaboração de novos fármacos, pois proteínas são responsáveis por parte das funções celulares de um organismo, como por exemplo, o comportamento e as atividades metabólicas do mesmo.

Conforme Verli (2014), a elucidação da função dessas proteínas se dá por meio da bioinformática, onde é realizada uma pesquisa sobre a estrutura e a propriedade de uma molécula que ainda não se tem muita informação, sendo assim, bioinformática é qualquer técnica computacional que seja necessária aplicar ao estudo de um sistema biológico. Essa técnica visa abordar todas as estruturas de uma proteína,

aminoácidos e nucleotídeos dos genes, que deverão ser comparados com as de outras proteínas e genes que já possuem sua função conhecida.

Desta forma, Verli (2014) ressaltou que em 1970, Michael Levitt e Arie Warshel deram início às primeiras pesquisas com envolvimento de proteínas, onde conquistaram o prêmio Nobel de Química em 2013. Esta técnica tem grande importância porque o estudo dela abrange questões biológicas e as descobertas que são realizadas são utilizadas no planejamento de novas drogas para tratamentos da saúde humana. Várias áreas de conhecimento como; bioquímica, química, física, biologia celular e molecular e computação, estão envolvidas durante a pesquisa até que se chegue à elaboração de fármacos.

Diante disto, o presente trabalho teve como objetivo realizar a busca por proteínas homólogas ou ortólogas à proteína hipotética XP_001613425 *Plasmodium vivax* SAL-1 com função descrita, afim de contribuir *in silico* na elucidação da sua função.

MATERIAL E MÉTODOS

Para realização deste trabalho, foi realizada a busca pelo genoma do *Plasmodium vivax* Sal-1 no banco de dados do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) e selecionado o cromossomo 1, dentre os 14 disponíveis. No cromossomo 1 foi feita a busca por genes que codificam as proteínas hipotéticas e selecionada aleatoriamente a proteína hipotética XP_001613425.1.

A sequência primária de aminoácidos da proteína alvo de estudo, foi então submetida à análise comparativa com outras proteínas disponíveis no banco de dados do NCBI, utilizando a ferramenta *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST), no modo proteína, BLASTp.

Os resultados gerados pelo BLAST foram utilizados para confeccionar uma tabela com as dez primeiras proteínas com alto grau de homologia encontrada e outra com proteínas com função já descrita. Diante disto, foram então analisados e discutido os resultados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos resultados de busca e alinhamentos das sequências homólogas a proteína em estudo, foi confeccionada uma tabela (Tabela 1) com os 10 primeiros resultados encontrados.

Tabela 1. Dez primeiras proteínas homólogas à proteína hipotética XP_001613425.1 encontradas no alinhamento utilizando o BLAST.

Número de acesso	Nome / função	Organismo	*SI (%)	*SS (%)	*E-value
XP_001613425.1	hypothetical protein	<i>Plasmodium vivax</i> Sal-1	100	100	0.0
SCO70404.1	RNA helicase, putative	<i>Plasmodium vivax</i>	99	100	0.0
SCO64913.1	RNA helicase, putative	<i>Plasmodium vivax</i>	99	100	0.0
SGX75120.1	RNA helicase, putative	<i>Plasmodium vivax</i>	99	100	0.0
KMZ95805.1	hypothetical protein PVMG_03879	<i>Plasmodium vivax</i> Mauritania I	99	100	0.0
KMZ83112.1	hypothetical protein PVIIG_03994	<i>Plasmodium vivax</i> India VII	99	100	0.0
KMZ89442.1	hypothetical protein PVBG_03163	<i>Plasmodium vivax</i> Brazil I	99	100	0.0
KNA02567.1	hypothetical protein PVNG_05062	<i>Plasmodium vivax</i> North Korean]	99	100	0.0
XP_008816822.1	Hypothetical protein C922 03006	<i>Plasmodium inui</i> San Antonio 1	83	100	0.0
XP_019912513.1	Uncharacterized protein PCOAH 00000490	<i>Plasmodium coatneyi</i>	82	100	0.0

*SI = porcentagem de identidade ou homologia. **SS = Porcentagem da sequência que é coberta pelo alinhamento. *E-value = Parâmetro de confiança.

Segundo a Tabela 1, as proteínas homólogas à proteína hipotética XP_001613425.1 apresentam valores de homologia variando de 82 a 100% (SI) e em sua maioria encontradas no próprio *P. vivax*, sendo também anotadas também como proteínas hipotéticas ou supostas RNA's helicases (putative). De acordo com estes resultados, não se observa qualquer proteína com função já descrita e desta forma, foi necessário observar os demais resultados do alinhamento, e a partir deles foi possível observar a presença de homologia entre a proteína de estudo e proteínas com função já descrita, sendo os resultados apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Homologia entre a proteína hipotética XP_001613425.1, RNA helicase e suposta RNA helicase (putative)

Número de acesso	Nome / função	Organismo	*SI (%)	*SS (%)	*E-value
XP_004220684.1	RNA-helicase	<i>Plasmodium cynomolgi strain B</i>	80	100	0.0
XP_002257536.1	RNA helicase	<i>Plasmodium knowlesi strain H</i>	79	100	0.0
SBS79843.1	RNA helicase, putative	<i>Plasmodium ovale curtisi</i>	58	94	0.0
SBT30372.1	RNA helicase, putative	<i>Plasmodium ovale wallikeri</i>	57	94	0.0
SBS81317.1	RNA helicase, putative	<i>Plasmodium malariae</i>	56	99	0.0
SBT86882.1	RNA helicase, putative	<i>Plasmodium malariae</i>	54	99	0.0
SBT74693.1	RNA helicase, putative	<i>Plasmodium malariae</i>	54	99	0.0
CDU17424.1	RNA helicase, putative	<i>Plasmodium yoelii</i>	56	93	0.0
SCN59333.1	RNA helicase, putative	<i>Plasmodium chabaudi chabaudi</i>	56	96	0.0
CDS46092.1	RNA helicase, putative	<i>Plasmodium berghei ANKA</i>	56	93	0.0
SCM20693.1	RNA helicase, putative	<i>Plasmodium chabaudi chabaudi</i>	57	93	0.0
XP_016653714.1	RNA helicase, putative	<i>Plasmodium chabaudi chabaudi</i>	56	96	0.0
SCM19966.1	RNA helicase, putative	<i>Plasmodium chabaudi adami</i>	56	96	0.0
SCN59332.1	RNA helicase, putative	<i>Plasmodium chabaudi adami</i>	55	96	0.0
CRG98390.1	RNA helicase, putative	<i>Plasmodium relictum</i>	55	93	0.0
XP_676400.1	RNA helicase	<i>Plasmodium berghei strain ANKA</i>	54	76	0.0
XP_018642426.1	putative RNA helicase	<i>Plasmodium gaboni</i>	51	93	0.0
CDO63531.1	RNA helicase, putative	<i>Plasmodium reichenowi</i>	68	80	5e-168
XP_019970602.1	RNA helicase, putative	<i>Plasmodium reichenowi</i>	68	80	6e-168
XP_002808754.1	RNA helicase, putative	<i>Plasmodium falciparum 3D7</i>	68	80	3e-167
KNG75267.1	RNA helicase	<i>Plasmodium falciparum IGH-CR14</i>	68	67	2e-162

*SI = porcentagem de identidade ou homologia. **SS = Porcentagem da sequência que é coberta pelo alinhamento. *E-value = Parâmetro de confiança.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 2, é possível observar que a sequência primária da proteína hipotética em estudo apresenta 80% de homologia com a enzima RNA helicase de *Plasmodium cynomolgi strain B* e 54% com a mesma enzima de *Plasmodium berghei strain ANKA* e em ambos os alinhamentos o valor de *e-value* é 0,0, o que torna os resultados deste alinhamento altamente confiáveis.

RNA helicases são enzimas dependentes de ATP, que promovem o desenovelamento das moléculas de RNA (Figura 1), embora esta reação possa acontecer espontaneamente, mas com cinética lenta (KONIG et al. 2013).

Sabe-se que o ácido ribonucleico (RNA), desempenha diversos papéis importantes, como por exemplo mensageiro para a síntese protéica. Para que ocorra a síntese de uma proteína, precisa-se da ação do RNA em diversas formas, como por exemplo, o RNA mensageiro (mRNA), o RNA ribossomal (RNAr) e o RNA de transferência (RNAt) (KONIG et al. 2013).

As variadas funções exercidas pelos diferentes tipos de RNAs é causada pela surpreendente diversidade estrutural que estes podem adotar (KONIG et al. 2013).

Segundo algumas pesquisas, a RNA helicase reorganiza as estruturas secundárias dos complexos de genes. Além disso, estão também associados aos processos especializados que envolvem o crescimento, diferenciação, desenvolvimento e o metabolismo de pequenos RNAs (KONIG et al. 2013).

CONCLUSÃO

Os resultados aqui apresentados deixam evidente que XP_001613425.1 possui de 51 a 80% de homologia com enzima RNA helicase encontrada em; *Plasmodium cynomolgi strain B*, *Plasmodium berghei strain ANKA* e *Plasmodium falciparum IGH-CR14*, sugerindo que a proteína alvo do estudo possa ser uma RNA helicase.

Identificar uma proteína hipotética pela comparação com proteínas homólogas ajuda a ter ideia de sua suposta função e é um estudo que não demanda de recursos financeiros altos. Além disso, esses dados podem contribuir para um estudo mais preciso sobre proteínas hipotéticas, de maneira a evitar tentativa e erro em estudos *in vitro*.

REFERÊNCIAS

KONIG, L. B. S.; LIYANAGE, S. P.; SIGEL, K. O. R.; RUEDA, D. Helicase-mediated changes in RNA structure at the single-molecule level. **RNA Biology**, London, v. 10, n. 1, p. 133-148, jan. 2013.

LODISH, H.; BERK, A.; KAISER, C. A.; KRIEGER, M.; BRETSCHER, A.; PLOEGH, H.; AMON, A.; SCOTT, M. P.; **Biologia Celular e Molecular**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. 1210p.

NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LIMARDI, P. M. **Parasitologia Humana**. 9. ed. São Paulo: Atheneu. 1998. 524 p.

SHEN, H. M.; CHEN, S. B.; WANGL, Y.; CHEN, J. H. Whole-genome sequencing of a Plasmodium vivax isolate from the China-Myanmar border área. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 110, n. 6, p. 814-816, 2015.

VERLI, H. **Bioinformática da Biologia à Flexibilidade Molecular**. Porto Alegre: Artmed, 2014. 282p.