

XU Congresso
Fluminense
de Iniciação
Científica e Tecnológica

28^o

Encontro de
Iniciação
Científica
da UENF

20^o

Circuito de
Iniciação
Científica do
IFFluminense

16^o

Jornada de
Iniciação
Científica
da UFF



UIII Congresso
Fluminense de
Pós-Graduação

23^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UENF

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
do IFFluminense

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UFF

Caracterização biofísica da proteína SmE16 de *Schistosoma mansoni*

Thais Rangel Figueiredo, Ana Eliza Zeraik

O *Schistosoma mansoni* é um parasita helminto responsável por causar a esquistossomose, uma enfermidade que impacta milhares de pessoas ao redor do mundo. Atualmente, o único medicamento disponível para o tratamento da doença é o praziquantel, que atua desestabilizando a homeostase de cálcio em vermes adultos, evidenciando a possibilidade de se utilizar proteínas ligantes de cálcio para futuras intervenções. A proteína SmE16 é uma proteína ligante a cálcio, inicialmente identificada como específica de ovos de *S. mansoni*, mas posteriormente encontrada em vários estágios e tecidos do parasita em altos níveis de expressão, sugerindo sua possível utilidade na busca de novas terapias para a esquistossomose. O propósito deste estudo é caracterizar a proteína SmE16, por meio de técnicas biofísicas e avaliar se a proteína liga a cálcio e se essa ligação provoca mudanças conformacionais na proteína, visando obter indícios de sua função. Para isso, utilizamos a proteína SmE16 previamente expressa em *E. coli* e purificada. Foram realizadas análises de dicroísmo circular (CD) utilizando 5 μM da proteína em tampão Tris 50 mM pH 8,0 e NaCl 150 mM que foram incubadas com 5 mM de CaCl_2 . Os espectros de CD foram obtidos no intervalo de comprimento de onda entre 190 a 260 nm e também de 260 a 320 nm, e comparados com os espectros da proteína sem cálcio. A proteína foi submetida a eletroforese em gel nativo na presença de EGTA e diferentes íons (cálcio e bário). Foi realizada análise de SDS-PAGE da proteína mediante digestão branda com tripsina na ausência e na presença de Ca^{2+} . Também foi realizada análise de espectroscopia de fluorescência da proteína, utilizando o triptofano como sonda intrínseca, na presença e na ausência de Ca^{2+} . A amostra foi excitada a 295 nm e os espectros de emissão foram obtidos no intervalo de comprimento de onda de 300 a 450 nm. Análises dos experimentos de CD mostraram pequenas alterações na estrutura secundária na proteína SmE16 quando ligada ao cálcio, mas foi possível observar mudanças significativas na região de 260 a 320 nm, que corresponde aos resíduos aromáticos fornecendo indícios de alterações na sua estrutura terciária. Através da análise do gel nativo foi possível observar migração diferencial quando SmE16 era incubada com Ca^{2+} . Também foi observado um padrão de bandas distinto em SDS-PAGE com e sem adição de cálcio, após digestão branda com tripsina. Por fim, os espectros de fluorescência indicaram mudanças na estrutura terciária da proteína, assim como observados no CD. Com isso, pretendemos contribuir para a elucidação da função ainda desconhecida desta importante proteína em *S. mansoni*.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
Eixo temático: CBB- Biociências
Fomento da bolsa: CNPq

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



**XV Congresso
Fluminense
de Iniciação
Científica e Tecnológica**

28^o

Encontro de
Iniciação
Científica
da UENF

20^o

Circuito de
Iniciação
Científica do
IFFluminense

16^a

Jornada de
Iniciação
Científica
da UFF



**U III Congresso
Fluminense de
Pós-Graduação**

23^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UENF

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
do IFFluminense

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UFF

Biophysical characterization of the *Schistosoma mansoni* SmE16 protein

Thais Rangel Figueiredo, Ana Eliza Zeraik

Schistosoma mansoni is a helminth parasite responsible for causing schistosomiasis, a disease that affects thousands of people around the world. Currently, the only drug available for the treatment of the disease is praziquantel, which acts by destabilizing calcium homeostasis in adult worms, highlighting the possibility of using calcium-binding proteins for future interventions. The SmE16 protein is a calcium-binding protein, initially identified as specific to *S. mansoni* eggs, but later found in various stages and tissues of the parasite at high levels of expression, suggesting its possible usefulness in the search for new therapies for schistosomiasis. The purpose of this study is to characterize the SmE16 protein through biophysical techniques and to assess whether the protein binds calcium and whether this binding causes conformational changes in the protein, in order to obtain evidence of its function. For this, we used the SmE16 protein previously expressed in *E. coli* and purified. Circular dichroism (CD) analyzes were performed using 5 μ M of the protein in 50 mM Tris buffer pH 8.0 and 150 mM NaCl which were incubated with 5 mM CaCl₂. CD spectra were obtained in the wavelength range between 190 to 260 nm and also from 260 to 320 nm, and compared with the spectra of the protein without calcium. The protein was subjected to native gel electrophoresis in the presence of EGTA and different ions (calcium and barium). SDS-PAGE analysis of the protein was performed by mild digestion with trypsin in the absence and presence of Ca²⁺. Protein fluorescence spectroscopy analysis was also performed, using tryptophan as an intrinsic probe, in the presence and absence of Ca²⁺. The sample was excited at 295 nm and emission spectra were obtained in the wavelength range 300 to 450 nm. Analysis of the CD experiments showed small alterations in the secondary structure of the SmE16 protein when bound to calcium, but it was possible to observe significant changes in the region of 260 320 nm, which corresponds to the aromatic residues, providing indications of alterations in its tertiary structure. By analyzing the native gel, it was possible to observe differential migration when SmE16 was incubated with Ca²⁺. A distinct banding pattern was also observed on SDS-PAGE with and without calcium addition after mild trypsin digestion. Finally, the fluorescence spectra indicated changes in the tertiary structure of the protein, as observed in CD. With this, we intend to contribute to the elucidation of the still unknown function of this important protein in *S. mansoni*.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

