

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

**28<sup>o</sup>**

Encontro de Iniciação Científica da UENF

**20<sup>o</sup>**

Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

**16<sup>a</sup>**

Jornada de Iniciação Científica da UFF



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

**23<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UENF

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UFF

## Caracterização biofísica da proteína centrina de *Schistosoma mansoni*

*Bruna de Souza Mendonça Martins, Ana Eliza Zeraik*

O *Schistosoma mansoni* é o agente etiológico da esquistossomose, doença tropical que atinge aproximadamente 210 milhões de pessoas em 76 países, principalmente na África Subsaariana, Oriente Médio e América do Sul. As centrinas são proteínas da superfamília EF-hand ligantes de  $Ca^{2+}$  que desempenham diversas funções celulares essenciais para sobrevivência dos seres vivos, como nucleação e organização espacial dos microtúbulos. O objetivo deste trabalho é realizar a caracterização biofísica da centrina de *Schistosoma mansoni* (SmCentrina), uma proteína ligante de  $Ca^{2+}$  e ainda não estudada neste organismo, que pode possuir grande potencial como alvo molecular. Inicialmente foi realizada a amplificação da porção codificante deste gene por PCR, utilizando como molde cDNA de vermes adultos e primers específicos para SmCentrina. O produto de PCR foi clonado em vetor pGEM-T Easy e subclonado em vetor de expressão pET28a+, utilizando as enzimas de restrição BamHI e NdeI. A proteína foi então expressa em *E. coli* (Rosetta DE3) por indução com IPTG (0,4 mM) e purificada por cromatografia de afinidade utilizando resina de Ni-NTA. A clonagem foi realizada com sucesso, pois após a reação de PCR observamos a banda no gel de agarose de tamanho compatível com a SmCentrina, 489 pares de bases. Após sequenciamento do clone de SmCentrina para confirmação da sequência, o gene foi subclonado e a presença do inserto no vetor de expressão também foi confirmada por eletroforese em gel de agarose. A expressão da proteína foi detectada pelo aparecimento de uma banda de 19 kDa (compatível com SmCentrina) após a indução com IPTG em análise de SDS-PAGE 15%. As condições de purificação foram otimizadas em relação à composição do tampão e lavagens com imidazol para obtenção de amostra relativamente pura após cromatografia de afinidade. Obtivemos, desta maneira, uma proteína solúvel, estável, que foi purificada por cromatografia de afinidade e se mostra bastante promissora para os experimentos de caracterização.

**Palavras-chaves:** esquistossomose, cálcio, EF-hand, clonagem.

**Instituição do Programa de IC, IT ou PG:** Iniciação Científica

**Eixo temático:** Biociências

**Fomento da bolsa (quando aplicável):** CNPq

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



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

**28<sup>o</sup>**

Encontro de Iniciação Científica da UENF

**20<sup>o</sup>**

Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

**16<sup>a</sup>**

Jornada de Iniciação Científica da UFF



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

**23<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UENF

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UFF

## Biophysical characterization of *Schistosoma mansoni* centrin protein

*Bruna de Souza Mendonça Martins, Ana Eliza Zeraik*

*Schistosoma mansoni* is the etiological agent of schistosomiasis, a tropical disease that affects approximately 210 million people in 76 countries, mainly in sub-Saharan Africa, the Middle East and South America. Centrins are proteins of the EF-hand superfamily that bind  $Ca^{2+}$  that perform several cellular functions essential for survival of living beings, such as nucleation and spatial organization of microtubules. The objective of this work is to perform the biophysical characterization of *Schistosoma mansoni* centrin (SmCentrin), a  $Ca^{2+}$  binding protein not yet studied in this organism, which may have great potential as a molecular target. Initially, the encoding portion of this gene was amplified by PCR, using as template cDNA from adult worms and specific primers for SmCentrin. The PCR product was cloned into pGEM-T Easy vector and subcloned into pET28a+ expression vector using the restriction enzymes BamHI and NdeI. The protein was then expressed in *E. coli* (Rosetta DE3) by induction with IPTG (0.4 mM) and purified by affinity chromatography using Ni-NTA resin. Cloning was successfully performed, after the PCR reaction we observed bands on the agarose gel of size compatible with SmCentrin, 489 base pairs. After sequencing the SmCentrin clone for sequence confirmation, the gene was subcloned and the presence of the insert in the expression vector was also confirmed by agarose gel electrophoresis. Protein expression was detected by the appearance of a 19 kDa band (compatible with SmCentrin) after induction with IPTG on 15% SDS- PAGE analysis. The purification conditions were optimized with respect to buffer composition and imidazole washes to obtain a relatively pure sample after affinity chromatography. We thus obtained a soluble, stable protein that was purified by affinity chromatography and will now be subjected to characterization experiments.

**Keywords:** *schistosomiasis, calcium, EF-hand, cloning.*

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

