



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI – UFSJ
CAMPUS CENTRO-OESTE DONA LINDU – CCO
PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR**

ANA ALICE MAIA GONÇALVES

**IMUNOBIOINFORMÁTICA APLICADA AO DIAGNÓSTICO DE
*Schistosoma mansoni***

**DIVINÓPOLIS, MG
FEVEREIRO, 2018**

ANA ALICE MAIA GONÇALVES

IMUNOBIOINFORMÁTICA APLICADA AO DIAGNÓSTICO DE
Schistosoma mansoni

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-graduação em Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de São João Del-Rei, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Alexsandro Sobreira Galdino

Co-Orientador: Prof. Dr. Carlos Chavez Oletégui

DIVINÓPOLIS, MG
FEVEREIRO, 2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI – UFSJ
 INSTITUÍDA PELA LEI Nº. 10.425 DE 19/04/2002 – D.O.U. DE 22/04/2002
 CAMPUS CENTRO-OESTE DONA LINDU
 Programa de Pós-graduação Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

DISCENTE: ANA ALICE MAIA GONÇALVES

NÍVEL: MESTRADO

DATA DA DEFESA: 28/02/2018

HORÁRIO DE INÍCIO: 14:15.

LOCAL: SALA 303 - BLOCO C - CCO Dona Lindu

MEMBROS DA BANCA			
NOME	FUNÇÃO	TÍTULO	INSTITUIÇÃO DE ORIGEM
Alexsandro Sobreira Galdino	Presidente	Dr.	UFSJ
Mariana Campos da Paz Lopes	Membro	Dr.	UFSJ
Rodolfo Cordeiro Giunchetti	Membro	Dr.	UFMG

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "Imunobioinformática aplicada ao diagnóstico de *Schistosoma mansoni*".

Em sessão pública, após apresentação da dissertação durante 45 minutos, a discente foi arguida oralmente pelos examinadores. Reunida em sessão secreta, às 16:47, a banca considerou a mestranda Aprovada.
 Para constar, foi lavrada a presente ata, que é abaixo assinada pelos membros da banca e pelo mestranda.

Divinópolis, 28 de fevereiro de 2018.

Prof. Dr. Alexsandro Sobreira Galdino _____

Profa. Dra. Mariana Campos da Paz Lopes _____

Prof. Dr. Rodolfo Cordeiro Giunchetti _____

Ana Alice Maia Gonçalves Ana Alice Maia Gonçalves

Obs.: O(A) aluno(a) deverá encaminhar à coordenação do curso, no prazo máximo de 60 dias, os exemplares definitivos da dissertação ou tese.

Dedico este trabalho a todos da minha família, que me apoiaram e estiveram presentes em todos os momentos, sempre me dando forças para vencer todas as minhas batalhas!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre estar comigo, me guiando, iluminando, protegendo e abençoando. ELE que sempre abriu as portas da minha vida, me dando forças e sabedoria para enfrentar todos os desafios.

A minha mãe, por ser a pessoa mais batalhadora que conheço. Essa mulher GIGANTE me ensinou a enfrentar desafios, medos, a ir atrás dos meus sonhos com todas as garras, porém, sempre mantendo a humildade e os pés no chão. Sempre sacrificando seus próprios sonhos para me levar até o céu. Um simples “Obrigada por tudo” está longe de representar minha gratidão.

Aos meus irmãos, Tamires e Wagner, que sempre apoiaram minhas decisões e me aconselharam nos momentos de indecisões, me dando forças para sempre batalhar. Muito obrigada! Aos meus familiares, que são a minha base, sempre me motivando a estudar, entendendo meus momentos de afastamento e vibrando sempre com cada vitória conquistada.

Ao Prof. Dr. Alexsandro Galdino, por me receber de portas abertas ao LABIOM, me acolhendo desde o início dessa caminhada. Muito obrigada por todos os ensinamentos e por todas as palavras de incentivo. Obrigada por ser um orientador que acompanha todos os nossos passos, que sabe de todas as pontas e vírgulas do projeto, sempre nos amparando e preocupando com nosso desenvolvimento científico e, também, com nosso bem-estar.

A Prof.^a Dra. Débora Lopes, pela oportunidade de colaboração e, assim, realização de parte tão importante deste projeto, contribuindo para meu crescimento profissional e acadêmico.

A Laís, que me acolheu desde o meu primeiro dia no laboratório. Sempre disposta a me ajudar, me incentivando, me ajudando e sempre me salvando! Eu não sei como conseguiria completar esta etapa sem você!! Não tenho palavras para descrever a minha gratidão a você, obrigada por ser uma amiga dentro e fora do laboratório.

A Maria Juliana, que foi parte essencial deste trabalho, sempre disposta a me ensinar, com a maior paciência do mundo, tirando todas as minhas dúvidas e acrescentando muito em minha vida profissional e pessoal! O meu enorme MUITO OBRIGADA por fazer esta caminhada ser mais leve e divertida.

A Luana, que chegou de mansinho, se tornando parte muito importante desta jornada! Obrigada pelo seu companheirismo, pela ajuda nas horas do sufoco, pela ajuda nas horas normais, pelas risadas e tudo mais! Obrigada por tudo!!

Agradeço também a Suliana, Reysla e Juliana por toda a ajuda e companheirismo, dentro e fora do laboratório, sendo muito importantes para esta jornada. Muito obrigada por todos os ensinamentos e por toda a ajuda!!

A todos da Equipe LABIOM, pelos momentos de trabalho e descontração juntos. Vocês são uma família e só tenho que agradecer por poder fazer parte dela!!

Agradeço a todos meus amigos que, de algum modo, fizeram parte desta jornada, torcendo e me apoiando.

A todos vocês, que fizeram parte desta jornada, muito obrigada!

RESUMO

A esquistossomose, doença causada por trematódeos do gênero *Schistosoma*, representa um importante problema de saúde pública no mundo. Atinge principalmente países em desenvolvimento, devido às precárias condições de sobrevivência. No Brasil, a infecção por *Schistosoma mansoni* atinge 19 Estados, destacando-se o de Minas Gerais, onde prevalece em mais da metade de seus municípios. Para o controle e monitoramento eficaz da doença, é primordial a disponibilidade de testes de diagnóstico que sejam sensíveis e específicos. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi a identificação e seleção de novos antígenos, por meio de análises *in silico*, para a composição de um kit de diagnóstico inovador contra *S. mansoni*. Com a disponibilidade de informações e propriedades do parasito, contidas em bancos de dados, foi possível triar epítopos com capacidade antigênica, a partir de proteínas hipotéticas do *S. mansoni*, utilizando ferramentas de bioinformática. A triagem dos epítopos mais promissores, como candidatos a comporem kits de ensaios sorológicos, baseou-se em critérios de seleção, como, a localização celular, afinidade por moléculas HLA de classe II e por BCR, antigenicidade, baixa similaridade com proteínas humanas ou com proteínas de helmintos. Ao final das análises, os cinco melhores epítopos foram selecionados e, a partir deles, foi criada uma proteína multiepítopo recombinante por meio de desenho racional. O gene sintético, que codifica a proteína multiepítopo (denominada rMEBIOSM) foi clonado num vetor pET21a, para posterior inserção em células de *Escherichia coli* BL21 (λ DE3). Entretanto, não foi possível observar a banda correspondente à massa molecular de rMEBIOSM. Isso indica que, mesmo após a modificação de determinadas variáveis do protocolo de expressão, assim como a utilização de cepas diferentes, não houve expressão da proteína. O resultado obtido foi confirmado por meio de purificação de cromatografia de afinidade e *Dot-Blot*. Tais achados demonstraram que, possivelmente, a *E. coli* não foi a célula hospedeira adequada para a expressão da proteína, sendo necessária, então, a utilização de outras células hospedeiras para expressar a proteína rMEBIOSM.

Palavras Chave: esquistossomose, bioinformática, proteína multiepítopo, diagnóstico.

ABSTRACT

Schistosomiasis, a disease caused by trematodes of the genus *Schistosoma*, represents a major public health problem in the world. Affects mainly developing countries, due to precarious conditions of survival. In Brazil, *Schistosoma mansoni* infection affects 19 states, most notably Minas Gerais, where it prevails in more than half of its municipalities. For the control and effective monitoring of the disease, it is essential the availability of diagnostic tests that are sensitive and specific. In this context, the aim of this study was the identification and selection of new antigens, by in silico analysis, for the composition of a novel diagnostic kit against *S. mansoni*. With the availability of information and properties of the parasite, contained in databases, it was possible to screen antigenic epitopes from hypothetical *S. mansoni*, proteins using bioinformatics tools. The screening of the most promising epitopes, as candidates to compose serological test kits tests, were based on selection criteria, such as, cellular localization, affinity HLA class II molecules and BCR, antigenicity, low similarity to human or helminth proteins. At the end of the analyzes, the five best epitopes were selected and, from them, a recombinant multiepitope protein was created by rational design. The synthetic gene, encoding the multiepitope protein (termed rMEBIOSM) was cloned into a vector pET21a, for further insertion into *Escherichia coli* BL21 (λ DE3) cells. However, it was not possible to observe the band corresponding to the molecular mass of rMEBIOSM. This indicates that, even after modification of certain variables of the expression protocol, as well as the use of different strains, there was no expression of the protein. The result was confirmed by affinity chromatography purification and Dot-Blot. Such findings demonstrated that, possibly, *E. coli* was not the host cell suitable for protein expression, thus requiring the use of other host cells to express the rMEBIOSM protein.

Key words: *schistosomiasis, bioinformatics, multiepitope protein, diagnosis.*