

X CAIC - Congresso Anual de Iniciação Científica
XIV ECIF - Encontro Científico da FAMERP
5ª Mostra das Ligas Acadêmicas

BUSCA POR INTERAÇÕES ENTRE A PROTEÍNA NS4b DO VÍRUS DA DENGUE E PROTEÍNAS CELULARES HUMANAS

Guilherme P. Scagion, Carolina C. Pacca, Ronaldo Mohana-Borges, Maurício L. Nogueira, Alessandra Vidotto.

Laboratório de Pesquisa em Virologia, FAMERP, Departamento Doenças Dermatológicas, Infecciosas e Parasitárias.

Objetivo: Identificar interações entre a proteína NS4b do vírus da Dengue Tipo II (NS4b- DENV2) e proteínas do hospedeiro através de análises proteômicas.

Métodos: A proteína NS4b do DENV2 foi expressa utilizando o vetor pGEX-5X-1, contendo etiqueta Glutathione S-Transferease (GST), em *E. coli* BL21 (DE3). A proteína NS4b-DENV2 foi purificada utilizando coluna de afinidade. Foi realizado um ensaio *Pull down* e, posteriormente um *SDS-PAGE* para comparar as proteínas de extrato celular de HeLa que interagiram com NS4b-GST e com a proteína GST sozinha. As bandas do gel foram recortadas e passaram por digestão *in situ*, utilizando tripsina para obtenção dos peptídeos e posterior análise por Espectrometria de massas (MS), para identificar as proteínas diferencialmente precipitadas. Os dados obtidos pela análise MS foram utilizados para realização de uma busca contra banco de dados NCBI e posteriormente analisados no software *Scaffold* 3.6.

Resultados: Com essa análise foi possível confirmar a interação de 74 proteínas, com o *protein threshold* de 90% utilizando *Scaffold* 3.6. Entre essas proteínas, foi identificada a poliproteína do DENV2, além de outras proteínas provenientes do vetor de expressão e da *E. coli*, o que valida o nosso ensaio *pull down*. Também realizamos uma análise utilizando o *Scaffold*, com um *threshold* de 95%, e identificamos 26 proteínas diferencialmente precipitadas. Entre essas proteínas estão as *stanniocalcin-1* e *myozenin-2*, que ainda foram pouco estudadas e que possuem funções ligadas ao sistema imune, podendo ser alvos para futuras validações, uma vez que a NS4b atua na inibição da sinalização do interferon.

Conclusão: Dessa forma, esse estudo pode ser o início para a produção de novos conhecimentos sobre o papel da proteína NS4b na patogenicidade e replicação do DENV2, podendo auxiliar no desenvolvimento de novas estratégias para prevenção da Dengue.

Descritores: Proteômica, Vírus da Dengue, NS4b, Interações de proteínas, DENV2

Fomento: Pronex; Fapesp