

AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE UMA ARGININA QUINASE DE *STRONGYLOIDES VENEZUELENSIS* (SvAK37) EM DIFERENTES CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI*

Autora: Júlia Umbelino Lotéria

Colaborador: Dr William Henry Roldán Gonzales

Orientadora: Profa Dra Gisele Monteiro

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

juliaumbelino@usp.br

Objetivos

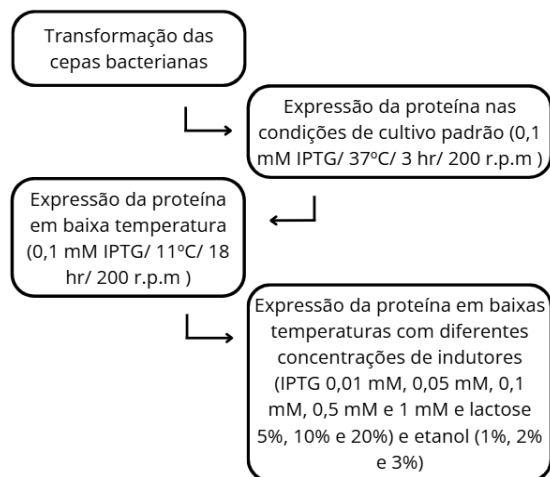
A estrogiloidíase humana é causada principalmente pelo helminto *Strongyloides stercoralis* e caracteriza-se por sua capacidade de multiplicação incontrolável, podendo levar a uma disseminação potencialmente fatal (síndrome de hiperinfecção) em pacientes imunocomprometidos, com taxas de mortalidade variando entre 15% e 87% nesse grupo (Vasquez-Rios et al., 2019). O diagnóstico definitivo da doença atualmente apresenta baixa sensibilidade e acurácia, destacando a necessidade urgente de desenvolver métodos diagnósticos mais eficazes. Por meio de análise imunoproteômica, Roldán et al. (2022) identificaram que os produtos de excreção e secreção (E/S) de larvas infectantes (iL3) de *S. venezuelensis* contêm 44 proteínas imunogênicas, entre as quais uma arginina quinase de 37 kDa (SvAK37) demonstrou sensibilidade de 93% e especificidade de 100% na detecção de anticorpos IgG em soros de pacientes infectados. No entanto, a

expressão heteróloga dessa proteína resulta na formação de corpos de inclusão e agregados proteicos. Diante disso, o principal objetivo deste trabalho foi identificar uma cepa bacteriana e condições de cultivo capazes de expressar a SvAK37 - um potencial biomarcador para o diagnóstico da estrogiloidíase - preferencialmente em sua forma solúvel, visando otimizar sua produção para aplicação em ensaios sor imunológicos.

Métodos e Procedimentos

Foram utilizadas sete cepas bacterianas para avaliação da expressão da SvAK37: AD494, Rosetta (DE3), Origami (DE3), Tuner (DE3), C43 (DE3), CodonPlus (DE3) e ArcticExpress (DE3). Para otimizar a obtenção da proteína na fração solúvel, realizou-se três etapas de triagem, selecionando-se nas segunda e terceira fases as cepas com melhor desempenho na etapa precedente. O fluxograma abaixo ilustra o procedimento experimental.

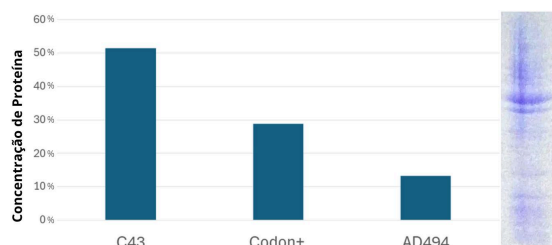
Figura 1: esquema de passos metodológicos da avaliação da expressão da proteína SvAK-37



Resultados

Ao longo do estudo, não foi possível detectar a presença da proteína de interesse na fração solúvel em nenhuma das linhagens ou condições de cultivo testadas. Entretanto, a análise por densitometria (*ImageJ*) revelou que a cepa C43 (DE3) apresentou expressão significativa da SvAK37 na fração insolúvel sob condições de baixa temperatura, correspondendo a $51,4\% \pm 7\%$ do total de proteínas expressas (quantificada pela intensidade da banda em gel de SDS-PAGE).

Figura 2: Análise por densitometria da expressão da proteína SvAK-37 na segunda triagem



Conclusões

Embora os resultados tenham demonstrado que a SvAK37 foi expressa na fração insolúvel, formando corpos de inclusão, esse fenômeno é amplamente documentado em sistemas de expressão heteróloga, particularmente em casos de superexpressão

de proteínas recombinantes em bactérias, o que frequentemente leva ao dobramento incorreto e agregação proteica (RI et al., 2017). Apesar desse resultado, o estudo proporcionou avanços importantes ao avaliar sistematicamente diferentes cepas e condições de expressão, permitindo identificar que a linhagem C43 (DE3), quando induzida em baixas temperaturas, apresentou uma produção significativamente maior da proteína na fração insolúvel em comparação com as outras cepas testadas. Essa descoberta abre perspectivas promissoras para futuras investigações, que poderão explorar estratégias alternativas para obtenção da proteína solúvel, como protocolos de solubilização e renaturação de proteínas em corpos de inclusão.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer à minha família pelo apoio incondicional aos meus sonhos, a todos do laboratório pela paciência e pelos ensinamentos e, por fim, à USP e à DOW pelo financiamento desta pesquisa. Projeto FAPESP: 2022/02456-0. CNPq306060/2022-1.

Referências

- VASQUEZ-RIOS, G.; PINEDA-REYES, R.; PINEDA-REYES, J.; et al. Strongyloides stercoralis hyperinfection syndrome: a deeper understanding of a neglected disease. *Journal of Parasitic Diseases*, v. 43, n. 2, p. 167–175, Jun. 2019.
- ROLDÁN GONZÁLES, W. H.; COELHO, R.; PIMENTA, D. C.; et al. Proteomic analysis of the excretory-secretory products from Strongyloides venezuelensis infective larvae: new insights for the immunodiagnosis of human strongyloidiasis. *Parasitology Research*, v. 121, n. 11, p. 3155–3170, Ago. 2022.
- RINAS, Ursula et al. Bacterial Inclusion Bodies: Discovering Their Better Half. *Trends in Biochemical Sciences*, [S. l.], v. 42, n. 9, p. 726-737, set. 2017.