

DESENHO DE VACINAS PEPTÍDICAS BASEADAS EM EPÍTOPOS IMUNODOMINANTES PARA O CONTROLE DA LINFADENITE CASEOSA.

Felipe Santos Rocha^{1,4} (Tema livre), e-mail: felipe.srocha@souunit.com.br
Tatiane Batista dos Santos^{1,4}, e-mail: tatianebdos@souunit.com.br;
Bruna Mylena Alves de Souza^{1,4}, e-mail: bruna.mylena@souunit.com.br;
Barbara de Jesus Costa^{2,4}, e-mail: barbara_j.costa@hotmail.com
Daniela Droppa-Almeida^{3,4} (co-orientador), e-mail: danieladroppa@gmail.com;
Francine Ferreira Padilha^{3,4} (Orientador), e-mail: fpadilha@yahoo.com.br

¹Universitário Tiradentes/Enfermagem/Aracaju/SE.

²Universidade Tiradentes/Biomedicina/Aracaju/SE.

³Universitário Tiradentes/Pós-Doc em Saúde e Ambiente/Aracaju/SE.

⁴Instituto de Pesquisa e Tecnologia/Aracaju/SE

Exemplo: 2.00.00.00-6 - Ciências Biológicas 2.12.00.00-9 – Microbiologia

Introdução: A Linfadenite Caseosa (LC) é uma doença infecciosa causada pela bactéria *Corynebacterium pseudotuberculosis* um cocobacilo gram-positivo e catalase-positivo da ordem *Actinomycetales*. A LC vem ocasionando inúmeros prejuízos à indústria de carne ovina e caprina, decorrente da diminuição da produção de lã, condenação e rebaixamento de carcaças e diminuição do rendimento de carne (DROPPA-ALMEIDA *et al.*, 2016; DOMENIS *et al.*, 2018). Ela possui duas formas clínicas, a forma superficial, quando há a presença de abscessos em linfonodos periféricos ou forma visceral, quando esses abscessos encontram-se nos órgãos internos (DE OLIVEIRA SILVA *et al.*, 2019). Devido a presença de granulomas, a antibioticoterapia hoje existente se torna ineficaz por não conseguirem cruzar essa barreira, como também, a vacina comercial hoje disponibilizada possui baixo poder de proteção, necessitando assim de uma nova dose a cada ano o que ocasiona um alto custo. Diante disso, busca-se antígenos que possuam potencial antigênico para formulação de uma vacina eficaz e duradoura. **Objetivo:** Selecionar antígenos que apresentem potencial para formulação de vacinas peptídicas frente à LC. **Metodologia:** Para isso acessou-se o GenPept em busca de proteínas de *C. pseudotuberculosis* para seleção e subsequente análises de bioinformática para verificar sua localização subcelular com o uso do ProtCompB, antigenicidade pelo VaxyJen 2.0, alergenicidade pelo AlgPred e presença de epítopos imunodominantes de células B pelo IEDB, assim como interação com receptor TLR2. **Resultados:** Um total de quatro proteínas foram selecionadas a CP1 (AKI58497.2), CP2 (AKI58439.2), CP3 (AKI59897.2) e CP4 (AKI58673.2). Após a obtenção das sequências primária as mesmas foram analisadas no ProtCompB para verificar sua localização subcelular, onde a CP1 e CP2 apresentaram peptídeo sinal como proteína secretada e as CP3 e CP4 classificadas como citoplasmática sendo excluídas das próximas análises. Pelo VaxyJen ambas proteínas (CP1 e CP2) se mostraram antigênica com um score de 0.68 e 0,89, respectivamente. Nas análises do AlgPred, tanto a CP1 quanto a CP2 se mostraram não alergênica. No IEDB a CP1 apresentou cinco epítopos imunodominantes para células B e a CP2 apresentou quatro epítopos imunodominantes para células B. Na verificação da interação

destes peptídeos com o receptor TLR2, todos os epitópos obtidos apresentaram interações. **Conclusão:** A busca de potenciais antígenos através da bioinformática tem sido amplamente utilizada devido à especificidade dos softwares e o baixo custo dos mesmos ao comparar com as etapas experimentais que muitas vezes podem ser suprimidas. Diante dos resultados apresentados foi possível selecionar a CP1 e CP2. Na sequência das análises, ambas foram antigênicas e não alergênicas, e com quatro e cinco regiões, respectivamente, capazes de interagir com anticorpos outro resultados importante foi a capacidade desses epitópos interagirem com o receptor TLR2 indicando potencial ativação do sistema imune inato que poderá acionar a resposta adaptativa. Deste modo os peptídeos encontrados podem servir como um alvo potencial para formular uma vacina peptídica multi-epitópos.

Palavras-chave: Antígenos putativos, Bioinformática, *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

Agradecimentos: Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo auxílio financeiro que possibilitou a dedicação integral ao Programa de Iniciação Científica – IC

ABSTRACT:

Introduction: Caseous lymphadenitis (LC) is an infectious disease caused by the bacterium *Corynebacterium pseudotuberculosis*, a gram-positive and catalase-positive cocobacillus of the *Actinomycetales* order. LC has been causing numerous losses to the sheep and goat meat industry, due to the decrease in wool production, condemnation and lowering of carcasses and decreased meat yield (DROPPA-ALMEIDA *et al.*, 2016; DOMENIS *et al.*, 2018). It has two clinical forms, the superficial form, when there are abscesses in peripheral lymph nodes or visceral form, when these abscesses are found in Organs internal organs (DE OLIVEIRA SILVA *et al.*, 2019). Due to the presence of granulomas, the antibiotic therapy that exists today is ineffective because they fail to cross this barrier, as well as the commercial vaccine available today has a low protective power, thus requiring a new dose every year, which causes a high cost. In view of this, we are looking for antigens that have antigenic potential for formulating an effective and lasting vaccine. **Objective:** To select antigens that have the potential for formulating peptide vaccines against LC. **Methodology:** For this, GenPept was accessed in search of proteins from *C. pseudotuberculosis* for selection and subsequent bioinformatics analysis to verify its subcellular location with the use of ProtCompB, antigenicity by VaxyJen 2.0, allergenicity by AlgPred and presence of immunodominant epitopes of cells B by IEDB, as well as interaction with TLR2 receiver. Results: A total of four proteins were selected at CP1 (AKI58497.2), CP2 (AKI58439.2), CP3 (AKI59897.2) and CP4 (AKI58673.2). After obtaining the primary sequences, they were analyzed in ProtCompB to verify their subcellular location, where CP1 and CP2 showed signal peptide as secreted protein and CP3 and CP4 classified as cytoplasmic being excluded from the next analyzes. By VaxyJen both proteins (CP1 and CP2) were shown to be antigenic with a score of 0.68 and 0.89, respectively. In the AlgPred analyzes, both CP1 and CP2 proved to be non-allergenic. In the IEDB, CP1 showed five immunodominant epitopes for B cells and CP2 showed four immunodominant epitopes for B cells. In checking the interaction of these peptides with the TLR2 receptor, all the epitopes obtained showed interactions. **Conclusion:** The search for potential antigens through bioinformatics has been widely used due to the specificity of the software and its low cost when compared to the experimental steps that can often be suppressed. In view of the results presented, it was possible to select CP1 and CP2. Following the analyzes, both were antigenic and non-allergenic, and with four and five regions, respectively, capable of interacting with antibodies, another important result was the ability of these epitopes to interact with

the TLR2 receptor, indicating potential activation of the innate immune system that may trigger the adaptive response. In this way the peptides found can serve as a potential target for formulating a multi-epitope peptide vaccine.

Keywords: Bioinformatics, Caseous lymphadenitis, Recombinant vaccine.

Acknowledgements: To the National Council for Scientific and Technological Development - CNPq for the financial support that enabled full dedication to the Scientific Initiation Program - IC

Referências/references:

DE OLIVEIRA SILVA, Mara Thais *et al.* Establishment of an objective endpoint in mice model for caseous lymphadenitis vaccine trials. **Veterinary microbiology**, v. 230, p. 86-89, 2019.

DOMENIS, L. *et al.* Caseous lymphadenitis caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis* in alpine chamois (*Rupicapra r. rupicapra*): a review of 98 cases. **Journal of comparative pathology**, v. 161, p. 11-19, 2018.

DROPPA-ALMEIDA, Daniela *et al.* Recombinant CP40 from *Corynebacterium pseudotuberculosis* confers protection in mice after challenge with a virulent strain. **Vaccine**, v. 34, n. 8, p. 1091-1096, 2016.