

CARACTERIZAÇÃO *IN SILICO* DE PROTEÍNAS DE *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS* E INTERAÇÃO COM RECEPTORES IMUNOLÓGICOS

Tatiane Batista dos Santos^{1,3}, e-mail: tatiane.bdos@souunit.com.br;
Felipe Santos Rocha^{1,3}, e-mail: felipe.srocha@souunit.com.br
Bruna Mylena Alves de Souza^{1,3}, e-mail: bruna.mylena@souunit.com.br;
Glenda Amaral da Silva³, e-mail: Glendaamaral7@gmail.com
Daniela Droppa-Almeida^{2,3} (co-orientador), e-mail: danieladroppa@gmail.com;
Francine Ferreira Padilha^{2,3} (Orientador), e-mail: fpadilha@yahoo.com.br

¹Universitário Tiradentes/Enfermagem/Aracaju/SE..

²Universitário Tiradentes/Pós-Doc em Saúde e Ambiente/Aracaju/SE.

³Instituto de Pesquisa e Tecnologia/Aracaju/SE

2.00.00.00-6 - Ciências Biológicas 2.12.00.00-9 – Microbiologia

RESUMO: Introdução: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, um patógeno zoonótico que causa uma pseudotuberculose ou Linfadenite Caseosa (LC), patologia essa que é caracterizada pelo desenvolvimento de abscessos, principalmente em linfonodos internos e superficiais, e também em órgãos viscerais. Globalmente, ela acomete várias espécies de animais, como cabras, ovelhas, bovinos, cavalos dentre outros. E assim causando consideráveis perdas econômicas na indústria pecuária em todo o mundo. A vacinal comercial atual mostra ter baixa proteção e anualmente esses animais precisam ser vacinados. Com isso, busca-se encontrar novas moléculas para a produção de vacinas. O uso da bioinformática tem sido crescente no desenho de vacinas e consiste em analisar informações na triagem do genoma do patógeno e verificar inúmeras proteínas putativas e assim seleciona-las *in silico*. Visto que, através do auxílio dessa seleção, há possíveis chances dessas proteínas terem um potencial para formular vacinas recombinantes. **Objetivo:** Selecionar antígenos que apresentem potencial para compor uma vacina recombinante contra LC. **Metodologia:** Foi realizado o acesso no site da 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 epitopos imunodominantes de células B pelo IEDB, assim como prever sua estrutura 3D pelo GalaxyTBM e verificar a interação das proteínas com receptores imunológicos pelo SwarmDock. **Resultados:** Um total de quatro proteínas foram selecionadas a CP1 (QHQ71015.1), CP2 (QHQ71010.1), CP3 (QHQ71032.1) e CP4 (AKI59373.2). Após a obtenção das sequência 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) apresentou-se antigênica com um score de 0,76 e 0,46 nessa devida ordem. Com o resultado do VaxyJen a CP1 e a CP2 seguiu com as demais análises, e ambas não são alergênica segundo o AlgPred. No IEDB a CP1 apresentou um epítipo imunodominante para células B e CP2 apresentou quatro epítipos imunodominantes para células B. Após ambas tiveram sua estrutura 3D predita e ambas apresentaram interação com o receptor TLR2. **Conclusão:** A busca de

potenciais antígenos através da bioinformática tem sido amplamente utilizada devido a especificidade dos softwares e o baixo custo dos mesmos ao comparar com as etapas experimentais que muitas vezes podem ser suprimidas. Diante dos resultados expostos, foi possível selecionar a CP1 e a CP2 pois ambas foram antigênica e não alergênica, e com uma e quatro regiões, respectivamente, capazes de interagir com anticorpos, em relação a interação com o TLR2 é possível prever a possível ativação da resposta inata e subsequente ativação da resposta imune adaptativa, tornando-as potenciais alvos para futuros testes experimentais.

Palavras-chave: Bioinformática, Linfadenite Caseosa, vacina.

ABSTRACT: Introduction: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, a zoonotic pathogen that causes pseudotuberculosis or Caseous Lymphadenitis (LC), a condition that is characterized by the development of abscesses, mainly in internal and superficial lymph nodes, and also in central organs. Globally, it affects several species of animals, such as goats, sheep, cattle, horses, among others. And thus causing considerable economic losses in the livestock industry worldwide. The current commercial vaccine shows low protection and annually these animals need to be vaccinated. With this, we seek to find new molecules for the production of vaccines. The use of bioinformatics has been increasing in the design of vaccines and consists of analyzing information in the screening of the pathogen's genome and checking numerous putative proteins and thus selecting them *in silico*. Since, through the aid of this selection, there are possible chances that these proteins have the potential to formulate recombinant vaccines. **Objective:** To select antigens that have the potential to compose a recombinant vaccine against LC. **Methodology:** Access was made on the GenPept website in search of *C. pseudotuberculosis* proteins for selection and subsequent bioinformatics analysis to verify their subcellular location with the use of ProtComp, antigenicity by VaxiJen 2.0, allergenicity by AlgPred and presence of immunodominant B cell epitopes by IEDB, as well as predict its 3D structure by Galaxy TBM and verify the interaction of proteins with immune receptors by SwarmDock. Results: A total of four proteins were selected at CP1 (QH71015.1), CP2 (QH71010.1), CP3 (QH71032.1) and CP4 (AKI59373.2). 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) presented antigen with a score of 0.76 and 0.46 in that order. With the VaxyJen result, CP1 and CP2 followed with the other analyzes, and both are not allergenic according to AlgPred. In the IEDB, CP1 presented an immunodominant epitope for B cells and CP2 presented four immunodominant epitopes for B cells. After both, their 3D structure was predicted and both presented interaction with the TLR2 receptor. **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 exposed results, it was possible to select CP1 and CP2 as both were antigenic and non-allergenic, and with one

and four regions, respectively, capable of interacting with antibodies, in relation to the interaction with TLR2 it is possible to predict the possible activation of innate response and subsequent activation of the adaptive immune response, making them potential targets for future experimental tests.

Keywords: Bioinformatics, Caseous Lymphadenitis, vaccine.

Referências/references:

ARAÚJO, Carlos Leonardo et al. Prediction of new vaccine targets in the core genome of *Corynebacterium pseudotuberculosis* through omics approaches and reverse vaccinology. **Gene**, v. 702, p. 36-45, 2019.

GUERRERO, Jorge Antonio Varela et al. Isolation and molecular characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from sheep and goats in Mexico. **Microbial pathogenesis**, v. 117, p. 304-309, 2018.

SHI, Junge et al. Cofilin-1, peroxiredoxin-1, and galectin-3: Major proteins released by macrophages infected with *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Veterinary microbiology**, v. 239, p. 108461, 2019.