



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2015
<b>Local</b>	Porto Alegre - RS
<b>Título</b>	Caracterização de uma fosfatase putativa de Mycoplasma hyopneumoniae e de Mycoplasma flocculare
<b>Autor</b>	GABRIELA ELIS WACHHOLZ
<b>Orientador</b>	HENRIQUE BUNSELMEYER FERREIRA

## Caracterização de uma fosfatase putativa de *Mycoplasma hyopneumoniae* e de *Mycoplasma flocculare*

Gabriela E. Wachholz, Karina R. Lorenzatto & Henrique B. Ferreira

Laboratório de Genômica Estrutural e Funcional, Centro de Biotecnologia, UFRGS.

*Mycoplasma hyopneumoniae* e o *Mycoplasma flocculare* são duas espécies de micoplasma capazes de se aderir ao epitélio ciliar do trato respiratório de suínos. Estudos genômicos e transcritômicos comparativos entre essas duas espécies demonstram que elas compartilham grande parte dos genes conhecidos relacionados à virulência, mas, enquanto *M. hyopneumoniae* é patogênica, causando a pneumonia enzootica suína, *M. flocculare* é comensal. Assim, acredita-se que diferenças entre proteínas ortólogas possam ser determinantes da distinção entre os modos de vida dessas espécies de micoplasmas. Tais diferenças podem estar associadas à presença de domínios exclusivos ou divergentes ou a diferentes padrões de modificações pós-traducionais (MPTs). Dentre as MPTs mais comumente descritas em bactérias estão as fosforilações e desfosforilações, mediadas, respectivamente, por quinases e fosfatases. Até o presente momento, genes relacionados a estas enzimas ainda não foram anotados nos genomas sequenciados de *M. hyopneumoniae* e *M. flocculare*. Porém, considerando que cerca de 40% dos genes destas micoplasmas permanece sem anotação funcional, a presença deles nos genomas destas micoplasmas não pode ser excluída. A primeira etapa deste trabalho consistiu então na análise das 279 e 341 sequências deduzidas de aminoácidos de *M. hyopneumoniae* e *M. flocculare*, respectivamente, anotadas como hipotéticas ou hipotéticas conservadas. Utilizando a ferramenta BLAST e sequências de proteínas anotadas como fosfatases ou quinases em outras bactérias, foi feita a busca por domínios relacionados a estas enzimas. Como resultado, foi identificada uma fosfatase putativa de *M. hyopneumoniae* (MHP\_0450) e a respectiva ortóloga de *M. flocculare* (MFC\_00318), as quais foram selecionadas para estudos funcionais e estruturais comparativos. Para tanto, as sequências codificadoras da MHP\_0450 e da MFC\_00318 serão clonadas e expressas em *Escherichia coli*, para produção das proteínas recombinantes correspondentes. No momento, a sequência codificadora da MHP\_0450 está sendo amplificada por PCR *overlap*, para permitir a troca de códons TGA (codificadores de triptofano em *M. hyopneumoniae*, mas de parada em *E. coli*), por códons TGG. A MHP\_0450 recombinante será utilizada em ensaios funcionais, para demonstração e caracterização de sua potencial atividade como fosfatase. Para caracterização estrutural, serão inicialmente feitos modelos *in silico* para a MHP\_0450 e a MFC\_00318, com base na homologia com a estrutura 3D disponível da proteína ortóloga de *M. pneumoniae*. Análises comparativas dos padrões de expressão e atividade destas fosfatases putativas em diferentes linhagens de *M. hyopneumoniae* (patogênicas e não patogênicas) e *M. flocculare* também serão realizadas. Assim, espera-se demonstrar não somente a ocorrência de fosfatases em *M. hyopneumoniae* e *M. flocculare*, mas também possíveis diferenças estruturais, de expressão ou de atividade que possam ser correlacionadas à patogenicidade.