

Com auxílio da bioinformática catálogo de genes

Pesquisadores publicam artigo que espécies mais importantes do



Arthur Gruber e Alda Madeira: professores do Instituto de Ciências Biomédicas da USP

Os pesquisadores Arthur Gruber e Alda Madeira, professores do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (USP) inovaram. Arthur e Alda são médicos veterinários e fazem parte de um grupo de pesquisa estabelecido em 1996 no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP. Em 2005, o grupo se mudou para o Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas da USP, onde se encontra hoje.

Enquanto a maioria das equi-

pes de pesquisa em *Eimeria*, o agente causador da Coccidiose Aviária, sequenciam o genoma do organismo, que contém uma grande quantidade de sequências que não codificam proteínas, o grupo da USP focou seus estudos diretamente nos RNAs mensageiros. E, assim, descreveu o transcriptoma de três das espécies mais importantes de *Eimeria* (*E. acervulina*, *E. maxima* e *E. tenella*).

Um artigo foi publicado no *International Journal for Parasitology*. O transcriptoma é um termo que se refere ao conjunto de genes transcritos por uma célula, tecido ou estágio de desenvolvimento de um parasita.

Além disso, o grupo da USP identificou a existência de um outro estágio importante que também é preciso conhecer: o oocisto. Arthur explica: “O oocisto liberado nas fezes das aves com Coccidiose não é capaz de infectar outras. Para isso, é necessário que sofra no ambiente um processo denominado esporulação, o qual depende de condições adequadas de oxigenação, umidade e temperatura”.

A partir dos dados gerados será possível identificar quais são esses genes e suas possíveis funções. “Esse conhecimento pode nos ajudar a desenvolver novos métodos de controle da Coccidiose no ambiente, visando inibir a esporulação e, portanto, reduzindo a carga infectante de um galpão de frangos”, afirma Arthur.

A bioinformática foi funda-

mental para que o grupo pudesse realizar a análise de milhares de sequências genéticas e integrar os resultados.

Parte das ferramentas computacionais necessárias para a análise dos milhares de sequências biológicas foi desenvolvida pelo próprio grupo. E, este trabalho resultou em mais uma inovação: a criação de uma plataforma de análise denominada EGene, que permite processar os dados brutos das sequências, integrá-los e caracterizá-los quanto às funções biológicas desempenhadas pelos respectivos genes, uma tarefa denominada anotação funcional. Arthur Gruber conta que, além de contribuir no estudo dos genes de *Eimeria*, o programa EGene foi publicado na literatura científica e encontra-se disponível de forma gratuita na internet, permitindo assim que outros pesquisadores possam utilizá-lo em suas pesquisas.

Além disso, o grupo lançou um site contendo todas as informações geradas pela pesquisa: www.coccidia.icb.usp.br/eimeriatdb. Segundo Arthur, trata-se do maior portal de informações genéticas de *Eimeria* do mundo. O link para o trabalho publicado pela equipe brasileira no periódico científico *International Journal for Parasitology* é <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2011.10.008>.

O professor deu a seguinte entrevista para a Revista do AviSite (confira a íntegra em www.avisite.com.br/cet):

mática, grupo da USP gera de espécies de *Eimeria*

descreve o transcriptoma de três das agente causador da Coccidiose

Revista do AviSite: Os pesquisadores envolvidos neste trabalho já trabalham em novas pesquisas?

Arthur Gruber: O grupo está atualmente analisando o enorme conjunto de dados gerados. Um dos aspectos que estamos estudando é o processo de esporulação do oocisto. A maioria dos grupos de pesquisa em *Eimeria* tem trabalhado com os estágios intracelulares do parasita, aqueles que estão presentes no hospedeiro. Acharmos que existe um outro estágio importante que devemos conhecer melhor, que é o oocisto. O oocisto liberado nas fezes das aves com Coccidiose não é capaz de infectar outras. Para isso, é necessário que sofra no ambiente um processo denominado esporulação, o qual depende de condições adequadas de oxigenação, umidade e temperatura. Já sabemos que existe uma grande alteração na expressão de muitos genes durante a esporulação e a partir dos nossos dados será possível identificar quais são esses genes e suas possíveis funções. Esse conhecimento pode nos ajudar a desenvolver novos métodos de controle da Coccidiose no ambiente, visando inibir a esporulação e, portanto, reduzindo a carga infectante de um galpão de frangos. Outros desenvolvimentos que podem surgir a partir dos nossos dados dizem respeito à identificação de proteínas específicas do parasita, que poderiam ser alvos interes-

santes para o desenvolvimento de drogas, assim como antígenos que poderiam compor futuras vacinas.

Revista do AviSite: Como surgiu a plataforma EGene? cortar

Arthur: No ano de 2001, tive a oportunidade de participar de um curso intensivo de quatro semanas, mais uma vez na Fiocruz do Rio de Janeiro, sobre Bioinformática. Esse curso, patrocinado pela Organização Mundial da Saúde, visava treinar intensamente um grupo de pesquisadores do mundo inteiro para que eles pudessem, por sua vez, treinar outros pesquisadores em seus respectivos países e continentes. Além de ter aprendido uma enorme quantidade de informações, tive ainda a possibilidade de conhecer bioinformatas de vários países do mundo. Nesse curso havia um outro colega da USP, o Prof. Alan M. Durham, do Departamento de Computação do Instituto de Matemática e Estatística da USP. Ao longo do curso, estabelecemos uma amizade e parceria científica que dura até hoje. Como fruto dessa parceria, montamos e oferecemos vários cursos internacionais de Bioinformática, participamos da fundação de um programa de pós-graduação em Bioinformática na USP, e orientamos conjuntamente vários estudantes. Esse intenso trabalho em parceria rendeu vários artigos científicos internacionais em Ge-

E. acervulina, oocistos de *E. acervulina*, *E. maxima* e *E. tenella*: espécies abordadas no trabalho



nômica e Bioinformática. Dentro dessa parceria, desenvolvemos ainda vários programas interessantes para a análise de dados de sequenciamento, entre eles a plataforma EGene.

Revista do AviSite: O que é a plataforma EGene?

Arthur: A plataforma EGene é um conjunto integrado de programas que permite realizar uma grande variedade de análises bioinformáticas. Por ser genérica, a plataforma não é específica de um ou outro projeto de sequenciamento, mas pode ser utilizada em projetos de sequenciamento de qualquer organismo. A primeira versão do programa permitia fazer alguns processamentos básicos, e foi utilizada por vários grupos de pesquisa diferentes. A nova versão, denominada EGene 2, permite realizar o que se chama de anotação funcional e automática de sequências. A anotação é um processo de descrição de caracte-

rísticas das sequências no que diz respeito à sua localização e função biológica. Dada, por exemplo, uma sequência de DNA, o software permite identificar onde está o gene codificador de uma proteína, deduzir a sequência proteica derivada e inferir, com base numa série de evidências, qual seria a provável função de uma proteína. Essa análise, aplicada agora ao conjunto de todos os genes de um organismo, permite estabelecer um mapa de todo o metabolismo de um ser vivo. Isso significa que podemos criar uma base de dados que contenha todas as proteínas de um ser vivo catalogadas e as reações nas quais participam.

O software EGene em sua primeira versão está disponível no endereço www.coccidia.icb.usp.br/egene

Revista do AviSite: Qual é a sua opinião sobre as restrições ao emprego de drogas anticoccidianas?

Arthur: As drogas anticoccidianas permitiram o desenvolvimento da produção de frangos de corte que temos atualmente. Durante décadas, antes mesmo que houvesse qualquer outra forma de controle, o uso de drogas permitiu a criação de frangos em alta densidade com o concomitante controle da Coccidiose aviária. Contudo, o uso de drogas não é isento de problemas. Surtos de resistência a drogas, bem como a crescente preocupação com relação a resíduos químicos nas carcaças de animais destinados à alimentação humana, têm colocado o uso de drogas sob julgamento constante. Esse é um assunto para o qual há opiniões muito divergentes e frequentemente radicais. Minha opinião é que num mundo ideal não deveríamos mais precisar de drogas. Contudo, não vivemos num

Pesquisa elucidou as proteínas que compõem os parasitas e suas possíveis funções no seu ciclo de vida

mundo ideal, e as alternativas têm que se mostrar biológica e comercialmente viáveis. O que não devemos, em minha opinião é ter uma postura eminentemente ideológica. Todos sabemos, por exemplo, que os antibióticos podem ter sua ação prejudicada pelo surgimento de populações de micro-organismos resistentes. Também sabemos que os antibióticos podem apresentar efeitos colaterais de grau variável. Entretanto, poucas são as pessoas que conscientemente se recusariam a tomar um antibiótico no caso de uma infecção bacteriana. No passado as pessoas morriam de infecções que hoje são facilmente tratáveis. Será que as desvantagens dos antibióticos não são plenamente compensadas por seus benefícios? Voltando ao uso de anticoccidianos, qualquer nova tecnologia que permita sua substituição por métodos teoricamente mais seguros é bem vinda. Contudo, um outro

aspecto que tem que ser considerado é o custo de seu uso e o rendimento da produção. A população mais carente poderá continuar consumindo carne de frango se o custo de produção subir? O uso de vacinas em aves reprodutoras hoje é inquestionável, e o seu mercado em produção de frangos de corte tem se expandido. Minha sensação é que em longo prazo o desenvolvimento de vacinas cada vez mais eficazes e a um custo menor poderá substituir os anticoccidianos.

Revista do AviSite: Os resultados alcançados pela pesquisa podem dar subsídios para o desenvolvimento de uma nova geração de drogas?

Arthur: A catalogação dos genes dos parasitas causadores da Coccidiose aviária é o primeiro passo. Para muitas das proteínas já sabemos a função biológica. Contudo, existem ainda muitas outras que desempenham papéis que ainda desconhecemos. É importante ressaltar que esses dados poderão dar subsídios, não apenas para o eventual desenvolvimento de novas drogas, mas eventualmente para o desenvolvimento de uma nova geração de vacinas. No caso de drogas, a descoberta de enzimas específicas dos parasitas poderiam naturalmente candidatar-las a serem alvos moleculares. Atualmente, já existem métodos para desenvolver compostos químicos altamente específicos, os quais poderiam ter efeitos colaterais reduzidos. Por outro lado, a caracterização de antígenos específicos do parasita poderia contribuir para o desenvolvimento de vacinas de subunidades. Ao invés de se utilizar parasitas vivos, atenuados ou não, poderíamos empregar vacinas contendo um conjunto de proteínas imunizantes. ●