

Avaliação de mutação de aminoácido em um importante sítio de ligação de anticorpos neutralizantes e sua identidade entre diferentes amostras de genótipos PCV2 brasileiros*



A Panzardi¹, L Faim¹, F Hirose¹, GM Ravagnani¹, HF Costa¹ PMC Motta¹, JP Araujo Jr², CP Rodrigues², A Silva¹, MAM Buso¹

¹Departamento técnico e PDI (Ourofino Saúde Animal), Brasil; ²Instituto de biotecnologia, UNESP, Brasil

*Resumo original (em inglês) publicado em "Leman swine conference", Minnnesota, EUA, 2019

Introdução

O circovírus suíno tipo 2 (PCV2) é composto por uma fita simples de DNA (ssDNA) e possui uma alta taxa de substituição/evolução (1), o que pode explicar a existência de seis genótipos diferentes (2). O objetivo do estudo foi avaliar duas importantes regiões do epítipo neutralizante, 51-85 e 170-210 aminoácido (aa) em sua identidade percentual entre os genótipos PCV2a, PCV2b e PCV2d.

Materiais e métodos

51 amostras de sangue de leitões com sinais clínicos de PCV2 em diferentes granjas brasileiras foram isoladas e sequenciadas. 27 amostras de 2015-2017 e 24 amostras do ano de 2018. A região ORF2 da sequência genômica do PCV2 foram traduzidas em aa utilizando o programa Expasy (3). A sequência ORF2 do PCV2a, PCV2b e PCV2d foi obtida de (4), e PCV2b de uma vacina comercial recombinante (Safesui circovírus – Ourofino Saúde Animal, Brasil). Essas sequências foram alinhadas por (5). A modelagem molecular representativa de cada genótipo de PCV2 ORF2 foi realizada utilizando-se a ferramenta (6) e o modelo da proteína monômero capsídeo dos subtipos de PCV2 foi construído utilizando-se a estrutura (PDB ID: 3R0R:A) (7). Ambos os epítipos neutralizantes analisados foram avaliados em alinhamento sequencial por (8) e em diferentes estruturas de proteínas capsídeo dos genótipos (PCV2a; PCV2b; Safesui circovírus PCV2b; PCV2d) (9).

Resultados

As duas regiões epítipo dos isolados de PCV2b e PCV2d são mais próximas da Safesui Circovírus PCV2b do que do PCV2a. O epítipo 51-85aa é menos conservado que o 170-210aa entre os genótipos, demonstrando uma identidade percentual de 94-100% e 98-100% entre a PCV2b e a Safesui Circovírus, respectivamente. A identidade percentual da PCV2d em relação à Safesui Circovírus PCV2b foi de 83-85% e 95-100%, respectivamente. Três substituições distintas de aa foram detectadas no isolado PCV2a nos resíduos 59, 191 e 206 na análise estrutural dos epítipos do ORF2. A substituição da alanina pela arginina ou lisina (A59R na PCV2b e A59K no PCV2d) resultou numa drástica alteração na característica de aminoácidos: substituições de aa alanina ou arginina para glicina (A191G ou R191G na PCV2b e PCV2d), entretanto, a substituição de alanina para glicina não resultou em uma mudança abrupta nas características físico-químicas do resíduo como da arginina para a glicina. Na posição 206 da substituição de lisina do PCV2a para isoleucina no PCV2b e PCV2d (K206I) levou a uma

grande alteração nas propriedades físico-químicas do resíduo uma vez que a lisina é polar, carregada positivamente e hidrofílica, e a isoleucina é apolar e hidrofóbica.

Tabela 1. % da identidade dos epítipos do PCV2b e PCV2d em relação à vacina recombinante e ao PCV2a

Epítipo	51-85aa	170-210aa
% de identidade PCV2b em relação à		
Safesui Circovírus	94-100%	98-100%
PCV2a	80-83%	93-95%
% de identidade PCV2d em relação à		
Safesui circovírus	83-85%	95-100%
PCV2a	77-83%	93-95%

Conclusões

O resíduo 59 é um aa crítico para o reconhecimento dos epítipos pelos anticorpos [10,11]. Uma mutação pontual nesse resíduo afeta as propriedades químicas e estruturais e pode consequentemente dificultar o reconhecimento dos epítipos pelos anticorpos, o que pode levar à falha vacinal contra os diferentes genótipos de PCV2.

Nesse sentido, a vacina SAFESUI CIRCOVIRUS apresentou maior % de identidade ao PCV2b e PCV2d em relação ao PCV2a, levando a uma redução de risco de falhas vacinais a campo.

Referências

- Holmes, E.C., Evolution and Systematics. 353-72, 2009.
- Franzo G. et al, PLoS ONE 2018.
- <https://www.expasy.org/>
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank>
- <http://www.clustal.org/clustal2/>.
- Waterhouse. et al., Nucleic Acids Res. 46(W1), W296-W303 (2018).
- <http://www.rcsb.org/>
- Clamp, M. et al. Bioinformatics v.20. 2004.
- <https://pymol.org/2/>
- Huang, L., et al. 2011. Microbiology, 11:188.
- Liu, J., et al. Veterinary Microbiology, 260-267.