



Biologia computacional empregada no estudo *in silico* de genes de um parasito importante para a piscicultura: *Diphyllbothrium latum*.

Vagne de Melo Oliveira¹

¹Médico Veterinário – UFRPE. E-mail: vagne_melo@hotmail.com

Resumo: Entre o gênero *Diphyllbothrium*, *Diphyllbothrium latum* é uma das espécies mais importantes, conhecido como "tênia do peixe", chamada Difilobotríase. Em estudos *in silico* são aqueles que fazem uso de ferramentas de bioinformática, sem interferência humana na determinação dos dados. Este estudo teve como objetivo avaliar *in silico* genes de parasita de peixe *Diphyllbothrium latum*, utilizando ferramentas de bioinformática (NCBI, BLAST e ORFFINDER). Os resultados indicaram abordagem taxonômica 98% dos genes com *Diphyllbothrium nihonkaiense*. Assim, torna-se possível utilizar este tipo de ferramenta para auxiliar na taxonomia clássica.

Palavras-chave: bioinformática, *Diphyllbothrium*, peixes.

1. INTRODUÇÃO

As parasitoses do pescado apresentam potencial relevância para a saúde pública, especialmente as oriundas de origem marinha (NEVES, 2009). Entre as parasitoses, encontra-se o gênero *Diphyllbothrium*, sendo a espécie mais importante a *Diphyllbothrium latum*, conhecida como “tênia do peixe”, causa da chamada difilobotriose (EMMEL et al., 2006; NEVES, 2009). A liberação de ovos em ambiente aquático (rios, lagos, etc) mantém o ciclo de infecção na natureza, pois propicia em duas semanas a formação do coracídio, que será ingerido por um copépode, que serão ingeridos por peixes, que apresentarão as larvas na musculatura, gônadas, celoma, fígado e outros órgãos. O homem infecta-se pelo consumo de pescado, ovas e fígados (de peixes) crus, ligeiramente salgados ou submetidos à defumação sem aquecimento suficiente. Os plerocercóides podem parasitar peixes predadores que, nesse caso, terão o papel de hospedeiros paratênicos na cadeia biológica (NEVES, 2009).

A difilobotriose ocorre em áreas onde lagos e rios coexistem com o consumo humano de peixe cru, mal cozido ou defumado. O *D. latum* é endêmico nos lagos e deltas não poluídos do Hemisfério Norte e o *D. pacificum* ocorre na América do Sul. O crescimento da população de mamíferos marinhos, particularmente focas e leões marinhos no oceano Pacífico e Atlântico norte, está relacionado ao aumento da ocorrência de parasitas de peixes. Também o aumento das infecções marinhas está associado à distribuição mundial e ao aumento da popularidade da ingestão de alimentos marinhos ingeridos crus (EMMEL et al., 2008). No campo da biologia computacional existem vários bancos de dados públicos de periódicos e de resultados de pesquisas científicas. A principal ferramenta da pesquisa em bioinformática é o próprio computador e o seu resultante disponibilizado faz com que a utilização dos dados possa ser aproveitada de forma rápida e fácil. O objetivo deste trabalho foi identificar a compatibilidade dos genes *in silico* dos sítios de inserção de *Diphyllbothrium latum* com outros parasitos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo *in silico* é realizado através da utilização de ferramentas computacionais, disponíveis através de softwares ou mesmo *online*. Em nosso estudo, foram utilizadas ferramentas *online* (NCBI, CAP3, ORF e BLAST) para comprovação da viabilidade deste tipo de artifício, atreladas a biotecnologia. Para identificação dos quatro genes *in silico*, descritos na tabela 1, foram realizados, inicialmente, uma busca no banco de dados do Genbank localizado no NCBI (National Center of Biotechnology Information) para identificação das seqüências de genes disponíveis. Em seguida, foi realizada uma seleção de seqüências codificadoras (CDS) pertencentes a essas famílias de genes. Nesta etapa foi possível analisar, comparativamente, a quantidade de dados disponível no banco de dados do NCBI referentes ao número de famílias de genes descritas e ao número de CDS disponíveis



para cada gênero. Posteriormente, as sequências foram clusterizadas, utilizando-se o programa Sequence Assembly Program - CAP3 (Huang & Madan, 1999). Em seguida, foi feita a identificação das respectivas Open Reading Frame (ORFs) com o programa ORFfinder, com a identificação das regiões 3'-UTR e 5'-UTR de cada uma das sequências. As ORFs foram submetidas ao BLASTN para a identificação e seleção de sequências correlacionadas aos genes. Nessa etapa, as ORFs foram comparadas a outras sequências depositadas no banco de dados do NCBI database.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de acesso ou *accession number* é o identificador do registro da sequência depositada no *GenBank*, que combina letras e números, e que pertence então à coleção de sequências do banco de dados. Normalmente, este identificador compreende a combinação de uma letra seguida de cinco dígitos ou duas letras e seis dígitos (AMARAL *et al.*, 2007). Ele representa o relatório completo da sequência e não somente a sequência em si. A tabela 1 lista quatro números de acessos com suas respectivas sequências gênicas utilizadas neste trabalho, enquanto a figura 1 ilustra a localização das sequências selecionadas.

Tabela 1 – Sítios de inserção usados em bioinformática para *Diphyllbothrium latum*

Número de acesso	Sequência	CAP3
>gi 295844253 gb GU997615.1 Diphyllbothrium latum isolate 10P cytochrome oxidase subunit 1 (cox1) gene, partial cds; mitochondrial	ATTATACTCTCAGCTTGTGTACTTGA TAATATTTTGCATGATACTTGATTTG TTGTAGCTCACTTTCATT...	>Contig1 GGTATTAT ACTCTCAG CTTGTGTA CTTGATAA TATTTTGCA TGATACTT GATTTGTT GTA
>gi 295844251 gb GU997614.1 Diphyllbothrium latum isolate L27 cytochrome oxidase subunit 1 (cox1) gene, partial cds; mitochondrial	ATTATACTCTCAGCTTGTGTACTTGA TAATATTTTGCATGATACTTGATTTG TTGTAGCTCACTTTCATT...	GCTCACTTT CATTATGT AATGTCAC TAGGTTCTT ATATAAGT ATAATAGT GTTTTTGT T TGATGG...
>gi 295844249 gb GU997613.1 Diphyllbothrium latum isolate 07/16 cytochrome oxidase subunit 1 (cox1) gene, partial cds; mitochondrial	ATTATACTCTCAGCTTGTGTACTTGA TAATATTTTGCATGATACTTGATTTG TTGTAGCTCACTTTCATT...	
>gi 295844247 gb GU997612.1 Diphyllbothrium latum isolate NOL1 cytochrome oxidase subunit 1 (cox1) gene, partial cds; mitochondrial	GGTATTATACTCTCAGCTTGTGTACT TGATAATATTTTGCATGATACTTGAT TTGTTGTAGCTCACTTTC...	



Figura 1 – Localização da sequência >|cl|Sequence 1 ORF:207..329 Frame +3, com 40 aminoácidos.

A utilização das informações dos bancos de DNA e proteínas é de grande utilidade para a elucidação da função e expressão de novos genes. Os dados disponíveis podem ser utilizados de duas formas, direta - implica em identificar seqüências similares, ou com propriedades comuns, e estabelecer relações entre elas (por exemplo, filogenia molecular); e indireta - é feita através da predição de regiões e seqüências de genes relacionados, em espécies desconhecidas, através de alinhamento local (BLAST) (Malone *et al.*, 2006). Os resultados indicaram aproximação taxonômica de 98% com genes de *Diphyllbothrium nihonkaiense* mitochondrial cox1 gene for cytochrome oxidase subunit 1, partial cds, isolate: Dnm4.

4. CONCLUSÕES

O estudo *in silico* surge como uma ferramenta útil no auxílio a taxonomia clássica.

O dado acerca do parasito de peixes citado neste trabalho sugere sua aproximação taxonômica com outro gene, tomando um novo caminho para estudos de deterioração.

5. REFERÊNCIAS

AMARAL, AM; REIS, MS; SILVA, FR. Programa **BLAST**: guia prático de utilização Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 24 p., 2007.

BLAST - **Assembled RefSeq Genomes**. 2011. Disponível em <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. Acessado em 26 de Agosto 2011.

CAP3 - *Sequence Assembly Program CAP3*. Disponível em: <http://pbil.univ-lyon1.fr/cap3.php> Acesso em 2 Junho de 2011.

EMMEL, V.E.; INAMINE, E.; SECCHI, C.; BRODT, T.C.Z.; AMARO, M.C.O.; CANTARELLI, V.V.; SPALDING, S. *Diphyllbothrium latum*: relato de caso no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.39, p.82-84, 2006.



HUANG, X; MADAN, A. CAP3: A DNA Sequence Assembly Program. **Genome Research**, v. 9, p. 868–877, 1999.

MALONE, G; ZIMMER, PD; MENEGHELLO, GE; BINNECK, E; PESKE, ST. Prospecção de genes em bibliotecas de cDNA. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.12, p.07-13, 2006.

MASCHIO, T; KOWALSKI, T. Bioinformatics – a patenting view. **Trends in Biotechnology**, v.19, p. 334-339, 2001.

NEVES, D.N. 2009. **Helmintos parasitos de peixes de importância higiênico-sanitária**. Universidade Castelo Branco, UCB (Monografia).

ORFINDER, **Open Reading Frame Finder**. 2011. Disponível: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gorf/>. Acessado em 26 de Agosto 2011.

ROZEN, S; SKALETSKY, H. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In: KRAWETZ, S.; MISENER, S. (eds). **Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology**. Humana Press, Totowa, p. 365-386, 2000.