CARACTERIZAÇÃO BIOINFORMÁTICA DA METALOPROTEINASE AAEL005992 DE *Aedes aegypti*

Autores: Laís Marins Menezes, Eduarda Rodrigues Araujo Alves, Eduardo Mendes de Oliveira, Bruno Regis Lyrio Ferraz, Tatiane Sanches Soares

Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, Campus Alegre, Alto Universitário, S/N, Guararema – 29500-000 – Alegre - ES, Brasil, laismarins28@gmail.com, eduardarodriguesaraujoalves5@gmail.com, eduardo.oliveira.75@edu.ufes.br, bruno.ferraz@ufes.br, tatiane.s.soares@ufes.br.

Resumo
As arboviroses constituem um relevante problema de saúde pública, tendo o *Aedes aegypti* como principal vetor, o que reforça a necessidade de ampliar as estratégias de controle vetorial. Nesse contexto, a investigação de mecanismos moleculares envolvidos na biologia do vetor pode contribuir para a identificação de novos alvos. Este estudo realizou a caracterização *in silico* da proteína codificada pelo gene AAEL005992 de *Aedes aegypti*, pertencente à família ADAM de metaloproteinases. A análise pelo InterProScan identificou domínios característicos dessa família, incluindo o domínio desintegrina. O alinhamento múltiplo com sequências homólogas de cinco espécies de mosquitos revelou a conservação do motivo catalítico HEMGH na posição 342, com similaridade entre 70% e 91%. A predição estrutural pelo AlphaFold apresentou 57,5% dos resíduos com alta ou muito alta confiabilidade, enquanto a análise no PyMOL evidenciou os domínios catalítico, desintegrina e ADAM metalloprotease. Esses resultados indicam propriedades compatíveis com atividade proteolítica e sinalização celular, destacando o AAEL005992 como candidato promissor para estudos funcionais e controle vetorial.
Palavras-chave:*Aedes aegypti*. ADAM. Bioinformática estrutural. Controle vetorial.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas.
Subárea do conhecimento: Bioquímica.

Introdução

As metaloproteinases da família ADAM (A Disintegrin And Metalloprotease) constituem um grupo de enzimas ligadas à membrana celular, reconhecidas por sua organização modular complexa. Essas enzimas exercem papel fundamental na clivagem de proteínas de superfície, modulando processos de sinalização e comunicação célula–célula, além de participarem do desenvolvimento e da diferenciação celular (SEALS; COURTNEIDGE, 2003). Do ponto de vista estrutural, as ADAMs apresentam um domínio metaloprotease catalítico dependente de zinco, um domínio desintegrina responsável pela interação com integrinas e regiões C-terminais ligadas à regulação da atividade enzimática (EDWARDS; HANDSLEY; PENNINGTON, 2008).

Em insetos holometábolos, as metaloproteinases participam de processos de remodelamento tecidual durante a metamorfose. Em *Aedes aegypti*, diferentes metaloproteinases apresentaram expressão associada à metamorfose e à digestão do repasto sanguíneo, sugerindo participação desses grupos enzimáticos em processos fisiológicos distintos ao longo do ciclo de vida (PAGE-MCCAW et al., 2003; KANTOR et al., 2017). O *Aedes aegypti* é reconhecido como o principal vetor urbano de arboviroses de impacto global, incluindo dengue, Zika, chikungunya e febre amarela, configurando um dos maiores desafios contemporâneos à saúde pública (BHATT et al., 2013; KRAEMER et al., 2015). Contudo, o conjunto de metaloproteinases da família ADAM nesse vetor permanece pouco caracterizado funcionalmente (WATERHOUSE et al., 2007).

O gene AAEL005992, registrado no banco de dados VectorBase, apresenta características estruturais compatíveis com proteínas da família ADAM, incluindo domínio ADAM metalloprotease e o domínio desintegrina típicos dessa família. Apesar de seu potencial na relevância funcional, a proteína codificada por esse gene ainda não teve sua função determinada experimentalmente, o que representa

uma lacuna relevante no conhecimento bioquímico de *Aedes aegypti*. Diante disso, o presente estudo busca caracterizar bioinformaticamente a proteína AAEL005992, por meio da identificação de domínios conservados, análise de similaridade interespecífica e modelagem estrutural tridimensional, visando ampliar a compreensão funcional dessa metaloproteinase e sua relevância para o vetor.

Metodologia

A sequência gênica da metaloproteinase foi coletada nos bancos VectorBase (GIRALDOCALDERÓN et al., 2015) e NCBI (2024), a partir do identificador gênico AAEL005992, sendo a sequência proteica obtida em formato FASTA para as análises estruturais e funcionais. A caracterização funcional, incluindo identificação de família proteica, domínios conservados e sítio catalítico, foi realizada por meio do InterProScan (JONES et al., 2014).

A sequência proteica foi analisada por meio do BLASTp (ALTSCHUL et al., 1997), contra o banco de dados não redundante (nr) do NCBI, com o objetivo de identificar homólogos e selecionar sequências representativas de *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, *Armigeres subalbatus*, *Toxorhynchites rutilus septentrionalis*, *Topomyia yanbarensis e Ochlerotatus camptorhynchus*, com base em critérios de similaridade, cobertura e qualidade de anotação. As sequências selecionadas foram alinhadas por meio do BLAST, permitindo a visualização de regiões conservadas e a identificação do motivo catalítico ao longo das espécies analisadas. O alinhamento múltiplo foi realizado no MEGA versão 12 utilizando o método ClustalW, produzindo uma matriz de distâncias par a par utilizada para o cálculo de similaridade entre as sequências, obtida pela fórmula: Similaridade = (1 - distância) x 100%. Os valores obtidos foram expressos em porcentagem.

A estrutura tridimensional da proteína foi predita utilizando o AlphaFold (JUMPER et al., 2021) e analisada no PyMOL (SCHRÖDINGER, LLC, 2020), onde foram destacadas regiões estruturais relevantes, incluindo domínios funcionais e o sítio catalítico putativo.

Resultados

A proteína codificada pelo gene AAEL005992 possui 1090 aminoácidos e foi classificada como pertencente à família ADAM. A análise no InterProScan identificou domínios típicos dessa família, incluindo Collagenase (196–403 aa), o domínio ADAM_metalloprotease/Reprolysin (207–404 aa), o domínio ZnMc_adamlysin_II_like (208–402 aa), além do domínio desintegrina (409–494 aa) e região C-terminal (497–646 aa).

O alinhamento da sequência proteica codificada pelo gene AAEL005992 de *Aedes aegypti* com homólogos de *Aedes albopictus*, *Armigeres subalbatus*, *Toxorhynchites rutilus septentrionalis*, *Topomyia yanbarensis e Ochlerotatus camptorhynchus*, realizado por meio do BLAST e posteriormente analisado no MEGA, revelou regiões conservadas intercaladas com regiões variáveis (Figura 1), com valores de similaridade entre 70% e 91%, destacando maior conservação entre espécies do gênero *Aedes* (Tabela 1).

Figura 1 **-** Alinhamento múltiplo da proteína AAEL005992 mostrando regiões conservadas intercaladas com áreas variáveis usando os programas BLAST.

Conservação da sequência da metaloproteinase AAEL005992 entre diferentes espécies de Culicoides

Ae. aegypti	CTYAGSGGVEVVDTKFVALQASTIAHEMGHNFNIDHDGPECHCPNGNCVMASRTV
Ae. albopictus	CTYAGSGGVEVVDTKFVALQASTIAHEMGHNFNIDHDGPECRCPNGNCVMASKTV
Ar. subalbatus	CTYAGSGGVEVVDTKFVALQASTIAHEMGHNFNIDHDGSDCHCPNGNCVMASRTV
Oc. camptorhynchus	CTYAGSGGVEVVDTKFVALQASTIAHEMGHNFNIDHDGPDCHCPNGNCVMASKTV
T. rutilus septentrionalis	CTFAGSGGVEVVDTNFVPLQASTIAHEMGHNFNIDHDGPECSCPSGSCVMASKTV
	** ********** ** ********** * ** * ***** **

Fonte: Autoria própria

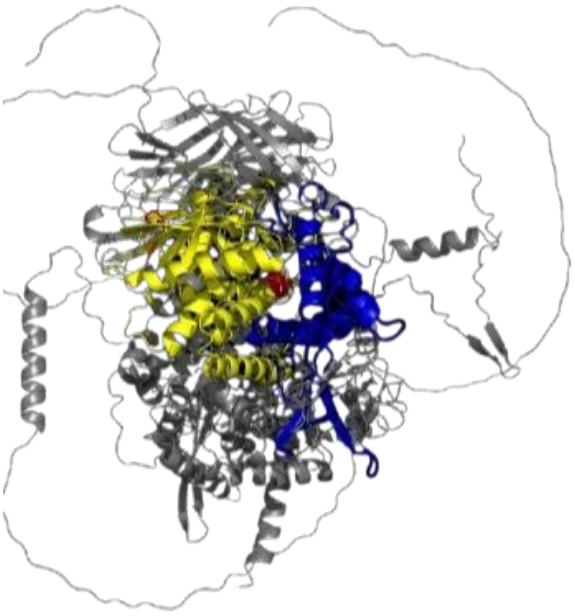
Tabela 1 — Porcentagem de similaridade da sequência proteica codificada pelo gene AAEL005992 de *Aedes aegypti* com espécies homólogas usando o MEGA.

Espécies	**Similaridade com *Aedes aegypti***
Aedes albopictus	91%
Armigeres subalbatus	84%
Toxorhynchites rutilus septentrionalis	83%
Topomyia yanbarensis	72%
Ochlerotatus camptorhynchus	70%

Fonte: Autoria própria

A modelagem estrutural da proteína codificada pelo gene AAEL005992, realizada pelo AlphaFold, revelou que 42,5% dos resíduos apresentaram baixa ou muito baixa confiança, indicando restrições na precisão do modelo. Por outro lado, 57,5% dos resíduos exibiram alta ou muito alta confiabilidade, e a análise no PyMOL possibilitou a identificação do domínio catalítico, do domínio ADAM metalloprotease e do domínio desintegrina (Figura 2).

Figura 2 - Estrutura tridimensional predita da proteína codificada pelo gene AAEL005992 visualizada no PyMOL, sendo o domínio ADAM metalloprotease representado em amarelo, o motivo conservado em vermelho e o domínio desintegrina em azul.



Fonte: Autoria própria

.

Discussão

A família ADAM é composta por proteínas de organização modular complexa, cuja função está associada à clivagem de proteínas de superfície celular e à regulação de processos de sinalização (SEALS; COURTNEIDGE, 2003). A caracterização *in silico* da proteína codificada pelo gene AAEL005992 revelou domínios típicos desse grupo, incluindo o domínio metaloprotease catalítico, ADAM_metalloprotease/Reprolysin e ZnMc_adamlysin_II_like, confirmando a presença de um sítio ativo dependente de Zn^{2+}, essencial para a clivagem proteolítica de substratos de membrana. Na região central da proteína, o domínio desintegrina foi identificado e está associado à interação com integrinas, podendo atuar na adesão celular e na comunicação célula–célula. A região C-terminal parece estar envolvida na estabilidade estrutural e em interações proteína–proteína, contribuindo para a regulação da atividade enzimática. Essa organização modular é típica das proteínas ADAM e está relacionada à atividade proteolítica e a funções regulatórias de interação celular (EDWARDS; HANDSLEY; PENNINGTON, 2008).

A análise de alinhamento múltiplo revelou elevada conservação no domínio catalítico central, de acordo com o descrito por Edwards e colaboradores (2008), que mostrou um padrão heterogêneo nas ADAMs, com regiões funcionais críticas preservadas e maior variabilidade nos domínios externos. A conservação da sequência foi fragmentada, com blocos conservados intercalados por regiões variáveis, especialmente nas porções N-terminal e C-terminal, marcadas por inserções e deleções. Essa complexidade estrutural está relacionada à presença de domínios adicionais, como o domínio desintegrina, associado à interação célula–célula. No gene AAEL005992, foi identificado o motivo catalítico HEMGH na posição 342, conservado em todas as espécies analisadas (Figura 3). Essa conservação entre linhagens filogeneticamente distintas sugere que pressões seletivas atuaram para manter o mecanismo catalítico ao longo da evolução, destacando a importância funcional dessa região para a atividade proteolítica. No gene AAEL005992, foi identificado o motivo putativo HEMGH na posição 342, conservado nas sequências homólogas analisadas. A conservação desse trecho sugere a manutenção evolutiva de resíduos potencialmente relevantes para a atividade catalítica. Embora as variações observadas nas posições adjacentes ao motivo não alterem as histidinas associadas à coordenação do Zn^{2+}, estudos experimentais serão necessários para determinar seus efeitos sobre a

conformação do sítio ativo e a especificidade de substrato (STOCKER; BODE, 1995; EDWARDS; HANDSLEY; PENNINGTON, 2008).

Os índices de similaridade variam de 70% a 91%, com maior conservação observada entre espécies do gênero *Aedes*, destacando-se os 91% de identidade entre *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Tabela 1). Em espécies mais distantes filogeneticamente, como *Toxorhynchites rutilus* (83%), *Topomyia yanbarensis* (72%) e *Ochlerotatus camptorhynchus* (70%), verificou-se redução progressiva da similaridade, sugerindo que pressões seletivas atuaram para preservar as regiões funcionalmente essenciais, como o domínio catalítico, enquanto regiões externas acumularam variações evolutivas, em conformidade com o padrão descrito para ADAMs (EDWARDS; HANDSLEY; PENNINGTON, 2008).

Segundo a predição estrutural obtida pelo AlphaFold, 57,5% dos resíduos da proteína apresentaram alta ou muito alta confiabilidade, sugerindo confiabilidade moderada para análises funcionais. As regiões de baixa confiança, correspondentes a 42,5% dos resíduos, podem refletir a complexidade multidomínio típica das proteínas ADAM, visto que regiões interdominiais e segmentos intrinsecamente desordenados tendem a ser menos bem definidos em predições estruturais (JUMPER et al., 2021). A análise estrutural realizada no PyMOL evidenciou a disposição espacial dos domínios funcionais, incluindo o catalítico, o ADAM metalloprotease e o desintegrina, em conformidade com a arquitetura modular descrita para proteínas da família ADAM (EDWARDS; HANDSLEY; PENNINGTON, 2008). Portanto, a caracterização *in silico* aponta que o AAEL005992 apresenta propriedades estruturais associadas à atividade proteolítica e à interação celular, destacando-se como candidato promissor para investigações funcionais e potenciais estratégias de controle de *Aedes aegypti*.

Conclusão

A caracterização de bioinformática do gene AAEL005992 de *Aedes aegypti* foi conduzida neste estudo e indicou que a proteína codificada pertence à família ADAM com 1090 aminoácidos, contendo arquitetura modular mais complexa refletindo sua natureza multifuncional. A presença do motivo conservado HEMGH na posição 342, detectado em todas as espécies avaliadas, reforça a preservação do mecanismo catalítico dependente de Zn^{2+} ao longo da evolução. As análises de similaridade demonstraram conservação parcial (70-91%) entre as espécies, com maior correspondência entre aquelas mais próximas filogeneticamente, sugerindo que pressões seletivas atuaram para manter a integridade funcional da proteína. A predição estrutural tridimensional gerou um modelo de moderada confiabilidade (57,5%), possibilitando a caracterização dos domínios funcionais e revelando a disposição espacial entre o domínio catalítico, domínio ADAM metalloprotease e o domínio desintegrina. Esses resultados reforçam que o AAEL005992 representa um alvo relevante para análises funcionais experimentais direcionadas à compreensão da biologia de sinalização e interação celular de *Aedes aegypti* e ao delineamento de estratégias de controle vetorial.

Referências

ALTSCHUL, Stephen F. et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 25, n. 17, p. 3389-3402, 1997. DOI: https://doi.org/10.1093/nar/25.17.3389.

BHATT, Samir et al. The global distribution and burden of dengue. **Nature**, London, v. 496, n. 7446, p. 504-507, 2013. DOI: https://doi.org/10.1038/nature12060.

EDWARDS, Dylan R.; HANDSLEY, Madeleine M.; PENNINGTON, Caroline J. The ADAM metalloproteinases. **Molecular Aspects of Medicine**, Oxford, v. 29, n. 5, p. 258-289, 2008. DOI: https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.08.001.pubmed.ncbi.nlm.nih+2

GIRALDO-CALDERÓN, Gloria I. et al. VectorBase: an updated bioinformatics resource for invertebrate vectors and other organisms related with human diseases. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 43, n. D1, p. D707-D713, 2015. DOI: https://doi.org/10.1093/nar/gku1117.

JONES, Philip et al. InterProScan 5: genome-scale protein function classification. **Bioinformatics,** Oxford, v. 30, n. 9, p. 1236-1240, 2014. DOI: https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu031.

JUMPER, John et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. **Nature**, London, v. 596, p. 583-589, 2021. DOI: https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2.

KANTOR, A. M. et al. Identification and initial characterization of matrix metalloproteinases in the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. **Insect Molecular Biology**, v. 26, n. 1, p. 113–126, 2017. DOI: 10.1111/imb.12275**.**

KRAEMER, Moritz U. G. et al. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. **eLife,** Cambridge, v. 4, e08347, 2015. DOI: https://doi.org/10.7554/eLife.08347.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION**. National Center for Biotechnology Information**. Bethesda: U.S. National Library of Medicine, 2024. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/.

PAGE-MCCAW, A.; SERANO, J.; SANTÉ, J. M.; RUBIN, G. M. Drosophila matrix metalloproteinases are required for tissue remodeling, but not embryonic development. **Developmental Cell**, v. 4, n. 1, p. 95–106, 2003. DOI: 10.1016/S1534-5807(02)00400-8**.**

RIDDIFORD, Lynn M. Hormones and *Drosophila* development. In: BATE, Michael; MARTINEZARIAS, Alfonso (ed.). **The development of Drosophila melanogaster**. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1993. p. 899-939.

SCHRÖDINGER, LLC. *PyMOL* **molecular graphics system**. Version 2.0. [S. l.]: Schrödinger, LLC, 2020. Disponível em: https://pymol.org/.

SEALS, Darren F.; COURTNEIDGE, Sara A. The ADAMs family of metalloproteases: multidomain proteins with multiple functions. **Genes & Development**, Cold Spring Harbor, v. 17, n. 1, p. 7-30, 2003. DOI: https://doi.org/10.1101/gad.1039703.pmc.ncbi.nlm.nih+1

STOCKER, Walter; BODE, Wolfram. Structural features of a superfamily of zinc peptidases: the metzincins. **Current Opinion in Structural Biology**, London, v. 5, n. 3, p. 383-390, 1995. DOI: https://doi.org/10.1016/0959-440X(95)80102-9.

WATERHOUSE, Robert M. et al. Evolutionary dynamics of immune-related genes and pathways in disease-vector mosquitoes. **Science**, Washington, DC, v. 316, n. 5832, p. 1738-1743, 2007. DOI: https://doi.org/10.1126/science.1139862.