

365

EXPRESSÃO DE UMA SUBUNIDADE DO ANTÍGENO B DE ECHINOCOCCUS GRANULOSUS NA LEVEDURA PICHIA PASTORIS. Caroline Thum, Adriane Cismoski, Veridiana Virginio, Marilise Rott, Gustavo Chemale, Arnaldo Zaha, Henrique Bunselmeyer Ferreira

(orient.) (UFRGS).

Echinococcus granulosus é um *platelminto* parasita da classe Cestoda que provoca uma doença endêmica no sul do Brasil conhecida como hidatidose cística. O diagnóstico geralmente é feito a partir da utilização de métodos imunológicos, essencialmente baseados na detecção de anticorpos específicos contra antígenos do parasito. Nosso grupo já clonou e expressou em *E. coli* vários genes de *E. granulosus*, inclusive alguns (AgB8/1, AgB8/2 e AgB8/3) que codificam subunidades do antígeno B (AgB), um componente imunodominante da fase larval do parasito. No entanto, a expressão de proteínas eucarióticas em sistema procariótico tem o inconveniente de não permitir, em princípio, o enovelamento e o processamento pós-traducional adequados da molécula. Por isso, pretende-se agora expressar o gene da subunidade AgB8/1 na levedura *Pichia pastoris* da cepa GS115, um sistema eucariótico que potencialmente permite a expressão de genes heterólogos em altos níveis. A porção codificadora do peptídeo maduro (210 pb) foi clonada, no vetor de expressão pPIC9 (Invitrogen). A inserção do vetor linearizado por clivagem com *Bgl* II no genoma da levedura produz o fenótipo MutS (metabolização lenta de metanol). A clonagem da sequência de *E. granulosus* em pPIC9 já foi executada e os clones recombinantes obtidos foram transformados em *P. pastoris*. A possível expressão de AgB8/1 em *P. pastoris* será avaliada e, se confirmada a proteína recombinante produzida será purificada do meio de cultura (no caso de secretada eficientemente) do extrato celular por cromatografia de afinidade, utilizando anticorpos policlonais específicos contra AgB8/1. A proteína recombinante deverá ser utilizadas em estudos para a caracterização estrutural, funcional e imunológica do AgB nativo.