

397

**CLONAGEM E EXPRESSÃO DE UMA SUBUNIDADE DO ANTÍGENO B DE ECHINOCOCCUS GRANULOSUS NA LEVEDURA PICHIA PASTORIS.** *Caroline Thum, Arnaldo Zaha, Marilise Brittes Rott (orient.) (UFRGS).*

O *Echinococcus granulosus* é um parasito platelminto da classe Cestoda que provoca uma doença endêmica no Brasil conhecida como hidatidose cística. Por este motivo, tem-se interesse na clonagem e na expressão de genes de *E. granulosus* em sistemas heterólogos que permitam a obtenção de grandes quantidades de proteínas recombinantes para ensaios estruturais, funcionais e imunológicos. Algumas subunidades (AgB8/1, AgB8/2) que codificam o antígeno B, um componente imunodominante da fase larval do parasito, já foram clonadas e expressadas em *Escherichia coli*. Devido a algumas limitações de expressão em sistemas procarióticos, estas subunidades foram clonadas em *Pichia Pastoris*, visto que é um sistema eucariótico de expressão e tem vantagens tais como processamento, dobramento e as modificações pós-traducionais que permitem a produção de proteínas recombinantes funcionalmente ativas. A porção codificadora completa (270pb), incluindo a seqüência do peptídeo-sinal de 20 aa e a porção codificadora do peptídeo maduro (210pb) do AgB8/2 foram clonadas, respectivamente, nos vetores de expressão pPHIL-D2 e pPIC9 (Invitrogen). Essas estratégias alternativas de clonagem permitem a expressão e a secreção do AgB8/2 em função do peptídeo-sinal codificado pelo próprio vetor (pPIC9) e a avaliação da funcionalidade em *P. pastoris* do peptídeo sinal responsável pela secreção do AgB8/2 em *E. granulosus* (quando expressada em pPHIL-D2). Os clones e seus respectivos controles foram transformados em *P. pastoris* da linhagem GS115 e já estão sendo testados quanto à expressão. As proteínas serão purificadas do meio de cultura utilizando coluna de imunoafinidade.