

057

**PURIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS DE LEPTOSPIRA COM POTENCIAL PARA DIAGNÓSTICO E VACINA.** *Fernanda Nassi, Fabiana Kömmling Seixas, Sandra Jouglard, Tiago Collares, Odir Dellagostin (orient.)* (Microbiologia, Instituto de Biologia, UFPEL).

Leptospirose é uma zoonose das mais difundidas no mundo, podendo evoluir de modo variável, desde quadros de infecção assintomática até quadros graves associados à alta letalidade. Esta doença é transmitida ao homem através da urina de animais infectados, principalmente roedores e cães. A metodologia convencional de diagnóstico da leptospirose só pode ser realizada em laboratórios de referência. Ultimamente tem havido um grande esforço no sentido de se obter testes rápidos, simples e eficientes, baseados em técnicas de biologia molecular. Neste sentido, este trabalho foi desenvolvido visando expressão, quantificação e purificação de duas proteínas de membrana de leptospira: LipL32 e OmpL1, para produção de anticorpos e desenvolvimento de testes de diagnóstico, além de potencial uso em vacinas. Os genes obtidos através da técnica de PCR utilizando-se o DNA de *Leptospira interrogans* foram clonados no vetor de expressão em *E. coli* denominado pAE, o qual permite a fusão da proteína com uma cauda de histidina, facilitando a sua purificação. Após a clonagem, os plasmídios foram usados para transformar cepas de *E. coli* BL21(DE3), pLysS, Codon Plus, DE3 e SI. Das cepas testadas, a que apresentaram maior nível de expressão das proteínas recombinantes foi a pLysS. A purificação das proteínas foi feita por cromatografia de afinidade com resina de Ni-NTA utilizando o Kit QIA EXPRESSIONIST (Qiagen) e a quantificação foi feita pelo método de Bradford. As proteínas purificadas serão utilizadas para produção de anticorpos monoclonais e policlonais e na realização de testes de imunogenicidade da proteína, ELISA e Western blot, além disso, são potenciais vacinas recombinantes de subunidade. (CNPq-Proj. Integrado).