ANÁLISE FUNCIONAL DA REGIÃO REGULATÓRIA DO GENE mdh DE Echinococcus granulosus.

Melissa Markoski, Jaqueline Rodrigues, Cláudia Nunes, Arnaldo Zaha (Departamento de Biotecnologia, UFRGS). A hidatidose cística, provocada pelo parasita Echinococcus granulosus, é uma doença endêmica no Rio Grande do Sul. Muitos estudos foram realizados mostrando a funcionalidade de regiões regulatórias (promotores) em genes de protozoários parasitas. Porém, existem poucos estudos nesta área para vermes. O gene que codifica a proteína malato-desidrogenase citosólica (MDH) de E. granulosus está sendo caracterizado. MDH é uma enzima envolvida na transferência de elétrons do citosol para a mitocôndria e indispensável ao parasita. Um fragmento de 1 kb, que flanqueia a região codificante em sua porção "upstream" foi caracterizado e nele foi encontrada a seqüência consenso do TATA box (elemento do promotor). A funcionalidade deste fragmento de 1 kb da região regulatória (promotor mdh) foi analisada utilizando-se o gene bacteriano que codifica a enzima cloranfenicol acetil transferase (CAT) como gene repórter. Os experimentos de expressão transitória de CAT, com e sem o controle do promotor mdh, foram avalidados em células NIH3T3, após transfecção. A construção com o promotor mdh clonado "upstream" ao gene CAT (pCAT Basic-MDH) demonstrou atividade três vezes maior que seu controle negativo (pCAT Basic). Esta região de 1 kb também foi clonada em orientação invertida, "upstream" ao gene CAT, para mostrar que a ação promotora desse fragmento é dependente de orientação. (CNPq/FAPERGS)