

SALÃO DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA
XXIX SIC

UFRGS
PROPESQ



múltipla 
UNIVERSIDADE
inovadora  inspiradora

Evento	Salão UFRGS 2017: SIC - XXIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2017
Local	Campus do Vale
Título	Clonagem e expressão de uma subunidade recombinante do AgB de <i>E. granulosus</i> em <i>Picchia pastoris</i>
Autor	ALEXIA NEDEL SANT ANA
Orientador	ARNALDO ZAHA

Clonagem e expressão de uma subunidade recombinante do AgB de *E. granulosus* em *Pichia pastoris*

Alexia Nedel Sant'Ana, Arnaldo Zaha.

Laboratório de Biologia Molecular de Cestódeos, Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

O *Echinococcus granulosus* é um helminto parasita pertencente a classe Cestoda, e sua fase larval (cisto hidático) é causadora da hidatidose cística. O cisto hidático se estabelece nas vísceras do hospedeiro intermediário e contém o fluido hidático, um líquido com os produtos de excreção e secreção do parasito, sendo o antígeno B (AgB) a proteína mais abundante. O AgB é uma lipoproteína formada por oligômeros de 8 kDa, codificados por uma família multigênica de pelo menos cinco genes (*AgB8/1*, *AgB8/2*, *AgB8/3*, *AgB8/4* e *AgB8/5*). O AgB é descrito como uma proteína de grande importância na biologia do parasito, por ter um possível papel na sobrevivência do parasito no hospedeiro. Estudos já demonstraram que o AgB é capaz de impedir o recrutamento de neutrófilos e inibir a atividade de proteases, além de ter alta afinidade por ácidos graxos. Além disso, possui importante papel na imunomodulação. A levedura *Pichia pastoris* é utilizada como um sistema de expressão eucarioto, e apresenta uma grande vantagem devido a sua habilidade de realizar modificações pós-traducionais necessárias às proteínas eucarióticas. O presente trabalho teve como objetivo a clonagem do gene codificador da subunidade *AgB8/1* no vetor de expressão pPICZαC, para posterior expressão da proteína recombinante em *P. pastoris*. A sequência codificadora foi amplificada por um PCR primário, e o produto deste foi utilizado como molde para um PCR secundário, esses PCRs permitem a adição de regiões de homologia com o vetor nas extremidades do produto amplificado. Foi feita a linearização do vetor de expressão pPICZαC por clivagem com as enzimas de restrição EcoRI e XhoI. O vetor foi defosforilado com a enzima SAP para impedir sua religação durante a clonagem, e purificado com o kit de purificação DNA GFX. Após, foi realizada a clonagem do *AgB8/1* por recombinação homóloga. As células da linhagem DH5α de *Escherichia coli* foram transformadas por choque térmico com o plasmídeo linearizado e o inserto de DNA do *AgB8/1*. Foram obtidas 2 colônias recombinantes, das quais foi extraído o DNA plasmidial, que foi utilizado como molde para um PCR com oligonucleotídeos iniciadores específicos para o *AgB8/1*. Foi confirmada a clonagem da sequência que codifica a subunidade *AgB8/1*. Posteriormente, será realizado um sequenciamento do DNA, para então realizar a expressão e purificação da proteína recombinante.

(Apoio financeiro: CNPq, CNPq-PIBIC).