



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2013
<b>Local</b>	Porto Alegre - RS
<b>Título</b>	Padronização da Expressão da Lactato Desidrogenase de Echinococcus granulosus (EgLDH) em Escherichia coli
<b>Autor</b>	FERNANDA ZILLI FERMINO
<b>Orientador</b>	ARNALDO ZAHA

O *Echinococcus granulosus* é um helminto parasita pertencente à Classe Cestoda. O desenvolvimento da fase larval (cisto hidático) de *E. granulosus* nas vísceras dos hospedeiros intermediários é responsável pela doença hidatidose cística. O cisto consiste em uma estrutura unilocular preenchida por líquido hidático, e sua parede é formada por duas camadas: uma laminar mais externa que é acelular e rica em carboidratos, e uma camada mais interna, a germinativa. Dentre os componentes do líquido hidático estão diversas proteínas, muitas delas relacionadas com a interação parasito-hospedeiro. Proteínas *moonlighting* exibem atividades funcionais, dentro ou fora da célula, não relacionadas à sua função inicialmente descrita. Dentre as proteínas já descritas como tendo funções *moonlighting* em organismos parasitas, destacam-se enzimas da via glicolítica, como a enolase, a aldolase e a LDH (lactato desidrogenase). As enzimas da via glicolítica de *E. granulosus*, foram identificadas em diferentes componentes do cisto hidático. A presença de proteínas como essas na camada germinativa e no líquido hidático de *E. granulosus*, incluindo a lactato desidrogenase (EgLDH), sugere a participação dessas enzimas em outros processos fisiológicos, dentre os quais aqueles de interação com o hospedeiro. O objetivo do presente trabalho é a padronização da expressão de lactato desidrogenase de *Echinococcus granulosus* (EgLDH) em *Escherichia coli*, para a utilização em posteriores estudos funcionais. A sequência codificadora clonada em pGEX-TEV se encontra disponível no laboratório. A expressão de LDH em fusão com a glutationa-S-transferase (GST) foi feita em *Escherichia coli*-BL21-CodonPlus-RIL a 20°C. A indução da expressão da proteína de fusão (GST-rEgLDH) foi feita com IPTG nas concentrações de 0,05 mM e 0,1 mM em dois tempos de indução, por 3h e *overnight* (O/N). Foi observado que na concentração de 0,1 mM se obteve maior quantidade de proteína expressa. Já em relação ao tempo, a indução O/N mostrou um rendimento maior em relação à 3h. A GST-rEgLDH foi avaliada quanto a sua solubilidade e, após a lise celular por sonicação, verificou-se a predominância da proteína nas frações insolúveis. A uma parte das amostras, foi adicionado Triton X-100 1% para auxiliar na solubilização da proteína de fusão. Ainda que a concentração de IPTG tenha influenciado na quantidade de proteína produzida, havendo maior rendimento nas induções com 0,1 mM, para ambos os tempos de indução, tal diferença de concentração não interferiu na solubilidade da proteína após o tratamento com Triton. Em relação ao tempo de indução, foi observada influência na solubilidade, sendo que nas induções O/N encontra-se maior quantidade de GST-rEgLDH na fração solúvel, em relação à indução por 3h. Após as análises, observou-se que a melhor condição para se obter maior rendimento de proteína solúvel é a indução O/N e tratamento com Triton X-100 1%, independente da concentração de IPTG utilizada.

(Apoio financeiro: PIBIC-CNPq)