

276

CLONAGEM DE CDNAS CODIFICADORES DE PROTEÍNAS DE MESOCESTOIDES CORTI ORTÓLOGAS DAS PROTEÍNAS HINDSIGHT E DA X-BOX BINDING PROTEIN-1. *Caroline Borges Costa, Alice Laschuk, Arnaldo Zaha, Henrique Bunselmeyer Ferreira (orient.) (UFRGS).*

Mesocestoides corti é um platelminto pertencente à classe Cestoda, a mesma de espécies de relevância médica e veterinária, como as pertencentes aos gêneros *Echinococcus* e *Taenia*. *M.corti* foi escolhido como organismo-modelo por diferentes aspectos, como a facilidade de obtenção do material biológico e a disponibilidade de protocolos estabelecidos para seu cultivo e manutenção *in vivo* e *in vitro*. A estrobilização (transição da fase larval para a adulta), que inclui a segmentação corporal e a maturação sexual, também é passível de indução *in vitro*. Pouco ainda é conhecido sobre os mecanismos moleculares envolvidos na estrobilização e este projeto visa estudar os genes e proteínas diferencialmente expressadas durante este processo. Para tal, seqüências de cDNA correspondentes a genes conservados relacionados ao desenvolvimento, previamente identificadas por seqüenciamento de clones de bibliotecas subtraídas, serão subclonados em um vetor da série pGEX. As seqüências clonadas serão expressadas em fusão com glutathione-S-transferase, para produção de proteínas recombinantes em *E. coli*. As proteínas recombinantes serão então utilizadas na imunização de camundongos para a produção de anti-soros policlonais monoespecíficos. Tais anti-soros posteriormente serão utilizados em ensaios de imunolocalização, para estudo do padrão de expressão espacial e temporal destas proteínas durante a estrobilização. Duas seqüências-alvo foram inicialmente selecionadas, as quais codificam as proteínas ortólogas à *hindsight* e à *X-box binding protein-1*. Os clones contendo estes cDNAs foram resseqüenciados, para confirmação da identidade das seqüências e, após, tiveram seus insertos amplificados por PCR. Na extremidade 5' do *primer* direto utilizado na amplificação, foi introduzido o sítio de clivagem para a endonuclease de restrição *Bam*HI. O vetor de expressão pGEX-4T1 foi clivado com as endonucleases *Bam*HI e *Sma*I e a clonagem será realizada utilizando a enzima DNA-ligase de T4. (PIBIC).