

460

PRODUÇÃO DE ANTÍGENOS RECOMBINANTES PARA USO EM TESTES DIAGNÓSTICOS DE LEPTOSPIROSE Fabiana K. Seixas; Fernanda Nassi; Marcelo Michelin; Sandra D.D. Jouglard; Odir A. Dellagostin. (Centro de Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS).

A leptospirose constitui um problema sanitário de importância mundial, não somente pela gravidade de sua patogenia, mas também como elemento potencial de contágio ao ser humano. 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: OmpL1 e LipL32, para produção de anticorpos e desenvolvimento de testes de diagnóstico. 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 e SI. Das cepas testadas, as que apresentaram maior nível de expressão da proteína recombinante foram a pLysS e a DE3. 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 foram utilizadas para produção de anticorpos monoclonais e policlonais e na realização de testes de imunogenicidade da proteína, ELISA e Western blot. (PIBIC- CNPq UFPel)