

## EXPRESSÃO E PURIFICAÇÃO DE PROTEÍNA MULTIEPÍTOPO RECOMBINANTE DO HCV

Natália Alberto Alves Brandão (Acadêmica), Irmtraut Araci Hoffmann Pfrimer (Orientadora).  
Curso de Biomedicina – Universidade Católica de Goiás  
Contato: pfrimer@brturbo.com.br

A hepatite C é considerada um dos maiores problemas de saúde pública no mundo. No Brasil, seu diagnóstico é realizado com *kits* importados, os quais não apresentam a mesma especificidade em todo o mundo, devido à alta heterogeneidade e ampla distribuição do vírus da hepatite C (HCV). Considerando a preocupação com a detecção precoce do HCV e que os métodos diagnósticos são de grande relevância clínica, o presente trabalho propõe a expressão e purificação de uma proteína recombinante (antígenos do *core*, NS3, NS4A, NS4B e NS5) codificada por um gene sintético (MEHCV – Multiepítopo HCV), desenhado com a inclusão de seqüências imunodominantes dos genótipos mais prevalentes no Brasil (1a e 3a) e uma *His-tag* no C-terminal. O gene MEHCV foi sintetizado e clonado no vetor de clonagem pBluescript SK pela empresa Epoch Biolabs (EUA). Foi realizada a digestão do vetor com as enzimas de restrição *NdeI* e *XhoI*, para liberação e purificação do inserto (Invitrogen). Paralelamente, o vetor de expressão pET-21a foi digerido com as mesmas enzimas. Em seguida, o inserto foi sub-clonado no vetor e foi realizada transformação na célula hospedeira *E. coli* Top 10. Após, as células competentes *E. coli* BL 21 DE3 (pLysS) foram preparadas para indução da expressão do gene MEHCV. A proteína de interesse (~29kDa) foi detectada por SDS-PAGE e *Western blot*. A purificação da proteína expressa foi realizada por cromatografia de afinidade em resina Ni-NTA. Como a purificação não foi total, foi feita outra purificação da proteína por cromatografia de afinidade em coluna com resina Ni-NTA. No entanto, não houve purificação total, possivelmente devido à presença de proteínas celulares. Na tentativa de solucionar esse problema, sugere-se utilização de novo protocolo, com extração dos corpos de inclusão, onde todas as proteínas celulares solúveis seriam retiradas da solução. Na seqüência do projeto, essa proteína será utilizada no desenvolvimento de *kits* nacionais para a detecção do HCV.

Palavras-chaves: 1) Hepatite C; 2) Proteína Multiepítopo; 3) Produção de *kits*