

JOÃO GUILHERME DA SILVA LICKS

“CLONAGEM E EXPRESSÃO HETERÓLOGA DA METILISOCITRATO LIASE DE *Paracoccidioides brasiliensis*”

RESUMO

A paracoccidioidomicose (PCM) é uma micose sistêmica humana, granulomatosa, causada pelo fungo termodimórfico *Paracoccidioides brasiliensis*. A infecção é adquirida pela inalação de propágulos aéreos produzidos pela forma miceliana do fungo, os quais são convertidos à forma de levedura no hospedeiro. Vários microrganismos são capazes de sobreviver em condições ambientais que se alteram de forma freqüente e rápida, envolvendo uma série de mecanismos de adaptação. Um desses mecanismos é a utilização do ciclo do glioxalato (CG) para a produção de energia a partir de compostos de dois carbonos. As enzimas isocitrato liase (ICL) e malato sintase (MLS) são essenciais neste ciclo. Uma reação análoga à realizada pela ICL na conversão de isocitrato em glioxalato e succinato ocorre na mitocôndria, durante o metabolismo de propionil-coenzima A (propionil-CoA) através do ciclo do 2-metilcitrato. Neste ciclo participa a enzima metilisocitrato liase (me-ICL) que realiza a clivagem do 2-metilcitrato em piruvato e succinato. O presente trabalho objetivou realizar a clonagem e expressão heteróloga da proteína me-ICL de *P. brasiliensis* (*PbMeICL*) com a posterior avaliação da atividade enzimática da proteína recombinante me-ICL de *P. brasiliensis* (*PbMeICLr*). A seqüência completa de cDNA da me-ICL de *P. brasiliensis* (*Pbmeicl*) foi analisada, bem como, a seqüência de aminoácidos de *PbMeICL*, sendo essa comparada com as seqüências de outros organismos. Seguiu-se a clonagem, expressão heteróloga e purificação da *PbMeICLr* com sua posterior avaliação de atividade. As análises demonstraram que a seqüência de cDNA de *Pbmeicl* possui 1818 pares de base e sua seqüência de aminoácidos possui 605 resíduos, sendo a *PbMeICLr* expressa em sua forma solúvel pela bactéria *Escherichia coli*. Os resultados obtidos neste trabalho possibilitarão estudos futuros para melhor caracterização dos parâmetros cinéticos da *PbMeICLr* e a busca de compostos com capacidade inibitória para a enzima.