

EXPRESSÃO DA PROTEASE ENTOMOPATOGÊNICA PR1A DE *METARHIZIUM ANISOPLIAE* EM *ESCHERICHIA COLI*. Camassola, M., Guedes-Frazzon, A.P., Vainstein, M.H., Schrank, A. (Centro de Biotecnologia -CBIOT, PPGBCM, UFRGS).

O fungo *Metarhizium anisopliae* é o entomopatogênico melhor caracterizado. Este fungo é um sistema modelo para estudar genes e enzimas envolvidas no processo de penetração durante a infecção do inseto hospedeiro. *M. anisopliae* também infecta cutícula de carrapato, o que leva esse microrganismo a ser um potencial agente para controle biológico de tal ectoparasita. A serino protease PR1A é produzida pelo fungo durante a infecção no hospedeiro. A protease PR1A representa uma família de genes em *M. anisopliae* e temos como objetivo observar a expressão da PR1A durante a infecção da cutícula de *Boophilus microplus*. Para isso foi clonado o cDNA e expressado a PR1A em *E. coli*. O cDNA da PR1A ORF foi sintetizado por RTPCR a partir do mRNA extraído de culturas de *M. anisopliae* E6 crescido em meio mínimo, onde a PR1A foi induzida. O cDNA foi clonado no vetor PUC19 e a região codificante foi subclonada no vetor de expressão PET16b e expressada em células de *E. coli* BI21(DE3). A proteína recombinante PR1A foi expressada na fração insolúvel da bactéria. Após solubilização com uma solução de CTAB 0,2% a proteína foi posteriormente purificada em coluna de afinidade a níquel. Como perspectiva temos a produção de anticorpos contra PR1A e imunomarcção em cutícula de *B. microplus*. (Fapergs, PADCTIII e CNPq).