

RI - Ferramentas proteômicas na identificação de novos alvos antigênicos na proteína M do *Histoplasma capsulatum* e aplicação em ensaios imunoenzimáticos

Claudia Vera Pizzini¹

1 - Fiocruz

Introdução:

A histoplasmose é uma infecção que apresenta amplo espectro clínico, variando desde forma leves, a graves e disseminadas. O diagnóstico da histoplasmose baseia-se nos aspectos clínicos, radiológicos e epidemiológicos. A confirmação se dá pelo isolamento e identificação do *Histoplasma capsulatum* através de procedimentos microbiológicos. Diferentes metodologias já foram descritas no diagnóstico sorológico da histoplasmose, porém limitações relacionadas a reações cruzadas e limiar de detecção das técnicas empregadas podem dificultar o diagnóstico. O antígeno M obtido do extrato antigênico histoplasmina é considerado um antígeno imunodominante para produção de anticorpos, sendo reconhecido em cerca de 90% dos soros dos pacientes com histoplasmose. O nosso grupo vem trabalhando a vários anos em estudos para um melhor conhecimento desta molécula e aplicação no diagnóstico. Um Modelo molecular do antígeno M foi desenvolvido através de sua sequência, tendo então confirmada sua natureza biológica como catalase. Observa-se também que esta molécula apresentava regiões comuns bem como específicas quando comparadas a catalases de organismos eucariotas.

Objetivo:

No presente estudo procuramos determinar a presença de possíveis epitopos antigênicos na proteína M empregando ferramentas proteômicas, para posterior emprego em ensaios imunoenzimáticos

Metodologia:

Foi utilizada a combinação da técnica de coimunoprecipitação com espectrometria de massas e posteriormente a técnica de Spot synthesis.

Resultados:

Com o emprego do anticorpo monoclonal (mAb 1A7) produzido contra a proteína M recombinante foi possível detectar uma sequência que foi comum às

duas metodologias empregadas (PTKIIPEELVPFTP). Esta sequência encontra-se localizada numa região onde estudos anteriores, por análise *in silico*, apontaram como a região mais antigênica desta molécula.

Conclusão:

Nossa proposta é realizar a síntese desta sequência com diferentes desenhos: extensão de resíduos de lisina e adição da molécula de biotina em ambas as extremidades, carboxi e amino terminal; a síntese da sequência sem adição de outras moléculas, para e posterior análise em ensaios imunoenzimáticos frente a soros de pacientes com histoplasrose com outras infecções fúngicas, pacientes com tuberculose e frente a indivíduos hígidos.

Palavras-Chave: Histoplasrose, diagnóstico com ferramentas proteômicas, imunoensaio