

RESUMO DE TESE

ANÁLISE DA ESTRUTURA E EXPRESSÃO DO GENE PARA UM ANTÍGENO PRINCIPAL DO TEGUMENTO DO *SCHISTOSOMA* *MANSONI*

Esta tese diz respeito à análise da estrutura e expressão do gene que codifica o precursor de Sm15, um antígeno tegumentar não glicosilado do *S. mansoni*. O ponto inicial para o projeto foi um cDNA parcial denominado A70, isolado com anticorpos contra antígenos de membrana do tegumento do verme adulto, antes do início de meus estudos. A identificação de Sm15 como antígeno tegumentar foi realizada através de uma combinação de experimentos envolvendo Western blots, imunofluorescência e imunomarcagem com ouro coloidal. Os estudos com ouro coloidal ao nível da microscopia eletrônica indicaram que as partículas de ouro estavam associadas à matriz tegumentar e possivelmente aos corpos discóides.

A sequência obtida contém 4700 nucleotídeos e representa provavelmente o "open reading frame" total do gene, codificando uma proteína de 1032 aminoácidos e uma massa molecular de 116.900 Da. Consequentemente, o gene codifica uma proteína muito mais longa que Sm15, sugerindo que o precursor é processado proteoliticamente. Além disto, uma região de repetições compreendendo 964 bp foi encontrada no meio do quadro de leitura.

Sm15 é detectado em vermes com idade variando de 2 a 6 semanas, mas não em esquistossômulos. Análises utilizando Northern blots, juntamente com o padrão de expressão de Sm15 e outros prováveis produtos do precursor sugeriram que: a) o gene é regulado ao nível de transcrição durante o desenvolvimento, e b) o processamento proteolítico do precursor é diferencialmente regulado durante a maturação.

O trabalho futuro será orientado para a investigação do relacionamento entre o precursor e seus produtos e da possível importância dos produtos processados, e em particular, da região de repetição para a imunidade protetora contra o parasita.

ANALYSIS OF THE STRUCTURE AND EXPRESSION OF THE GENE FOR A MAJOR TEGUMENTAL ANTIGEN OF *SCHISTOSOMA* *MANSONI*

The subject of this thesis is the analysis of the structure and expression of the gene encoding the precursor for Sm15, a non-glycosylated 15 kDa tegumental antigen of *S. mansoni*. The starting point for this project was a partial cDNA, A70, isolated with anti-tegumental membrane antibodies prior to the start of my work. Sm15 was identified as a tegumental antigen using antibodies affinity purified from antitegumental membrane anti-sera with the galactosidase fusion protein of A70, in a combination of experiments involving Western blots, immunofluorescence and gold immunolabelling. At the ultrastructural level the gold particles were associated with the tegumental matrix and possibly with the discoid bodies.

The collated sequence contains 4700 nucleotides and represents the putative full length open reading frame of the gene, encoding a protein of 1032 amino acids with a calculated molecular mass of 116,900 Da. Thus, the gene encodes a much longer protein than that identified in the tegumental membranes, suggesting that the precursor is highly processed. A 964 bp region of repeats was found to be present within the translated frame.

Sm15 is present in 2 week to 6 week old worms but not newly transformed or lung stage schistosomula. Northern blot analysis together with the pattern of expression of Sm15 and additional putative products of the precursor suggested that: a) the gene is developmentally regulated, and b) the proteolytic processing of the precursor is differentially regulated during maturation.

Future work will be directed at investigating precursor-products relationships and the possible role of the processed products, and in particular the repetitive amino acid sequence, in protective immunity.

Frederico G. C. Abath

Tese apresentada ao National Institute for Medical Research,
para a obtenção do Título de PhD (Doutorado)
Mill Hill, Londres, 1992.