

LE METALLOTIONEINE DI *TETRAHYMENA THERMOPHILA*: TOOLS EFFICACI PER L'ESPRESSIONE DI PROTEINE RICOMBINANTIF. BOLDRIN<sup>1</sup>, G. SANTOVITO<sup>1</sup>, D. CASSIDY-HANLEY<sup>2</sup>, T.G. CLARK<sup>2</sup>, E. PICCINNI<sup>1</sup>

francesco.boldrin@unipd.it

<sup>1</sup>Dip. di Biologia, Univ. degli Studi di Padova, Via Ugo Bassi 58/B, 35131 Padova, Italy; <sup>2</sup>Dep. of Microbiology and Immunology, College of Veterinary Medicine, Cornell University, Ithaca, NY

La comunità scientifica ha recentemente preso in notevole considerazione l'utilizzo di *Tetrahymena thermophila* per la produzione di proteine ricombinanti a scopi biotecnologici e come tool per la ricerca di base.

L'utilità di *Tetrahymena thermophila* come organismo modello si è accresciuta con lo sviluppo di vettori di espressione basati sui promotori dei geni delle metallothioneine (MT). Le MT sono un gruppo di proteine dal basso peso molecolare, capaci di legare metalli, che sono trascrizionalmente indotte dai metalli pesanti e da altri agenti stressori. Generalmente, nella maggior parte degli organismi sono presenti isoforme multiple che possono essere indotte differenzialmente. In *T. thermophila* sono state identificati cinque differenti geni di MT, i cui promotori rispondono preferenzialmente al Cd o al Cu: *MTT1*, *MTT2*, *MTT3*, *MTT4* ed *MTT5*.

Abbiamo dimostrato che la regione 5' dei geni *MTT2* ed *MTT5* agisce da promotore efficace per regolare l'espressione di geni eterologhi nel sistema *Tetrahymena*. Un gene candidato vaccino contro *Ichthyophthirius multifiliis*, un parassita dei pesci d'acqua dolce, è stato espresso a livelli elevati nelle linee cellulari trasformate di *T. thermophila*.

Il promotore di *MTT2* è altamente regolabile, semplicemente aggiungendo o eliminando Cu dal medium.

Il promotore di *MTT5* è inducibile soprattutto dal Cd. Mediante analisi di delezioni e mutazioni, abbiamo identificato una regione del promotore, chiamata *TtCdRE* (*Tetrahymena thermophila* Cadmium-Response-Element), che è necessaria per ottenere un alto livello di espressione del transgene, in seguito ad induzione con Cd. Questa è la prima descrizione di un elemento cis-acting funzionale in un gene di MT di un protozoo.

I dati qui riportati indicano che i promotori di *MTT2* ed *MTT5* possono essere un'interessante ed utile alternativa ai promotori comunemente utilizzati per l'espressione di gene eterologhi e potrebbero avere un notevole impatto in ambito biotecnologico.