



Evento	XXI FEIRA DE INICIAÇÃO À INOVAÇÃO E AO DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO – FINOVA/2012
Ano	2012
Local	Porto Alegre - RS
Título	Antígenos recombinantes de Mycoplasma hyopneumoniae para a formulação de vacinas contra a pneumonia enzoótica suína
Autor	JÉSSICA ANDRADE PAES
Orientador	HENRIQUE BUNSELMAYER FERREIRA

Antígenos recombinantes de *Mycoplasma hyopneumoniae* para a formulação de vacinas contra a pneumonia enzoótica suína

Paes, J. A., Virginio, V. G., Bonotto, R. M., Moitinho-Silva, L., Zaha, A., Ferreira, H. B.

Laboratório de Genômica Estrutural e Funcional, Centro de Biotecnologia, UFRGS.

Mycoplasma hyopneumoniae é o agente etiológico da pneumonia enzoótica suína (PES), que é uma doença respiratória crônica responsável por grandes perdas econômicas na suinocultura. As vacinas usadas contra PES são constituídas por células bacterianas inativadas, sendo chamadas de bacterinas. Estas vacinas apresentam custo relativamente alto de produção, devido às dificuldades de cultivo de *M. hyopneumoniae*, além de oferecerem apenas proteção parcial aos animais vacinados. A partir do sequenciamento do genoma de linhagens de *M. hyopneumoniae*, o trabalho de identificação de genes codificadores de proteínas potencialmente antigênicas (que são capazes de induzir resposta imune) foi acelerado, permitindo a seleção de diversos antígenos como candidatos para utilização em vacina contra a PES. A produção e caracterização imunológica de antígenos recombinantes (proteínas de *M. hyopneumoniae* expressas a partir da clonagem dos genes correspondentes em outra bactéria) é uma etapa do processo de desenvolvimento de vacinas alternativas, potencialmente mais eficientes e a um custo menor que o de bacterinas. Neste trabalho, estão sendo avaliadas três proteínas antigênicas de *M. hyopneumoniae*, que serão chamadas de MH1, MH2, MH3, uma vez que suas identidades são protegidas por patente. Para isso, a sequência de DNA codificadora (CDS) completa da proteína MH1 e as CDSs parciais das proteínas MH2, MH3 foram clonadas em um vetor de expressão plasmidial e as proteínas recombinantes correspondentes foram expressas na bactéria *Escherichia coli*. Esta metodologia foi empregada devido à facilidade de cultivo de *E. coli* em relação a *M. hyopneumoniae*, reduzindo o tempo e o custo de produção dos antígenos expressados. Os antígenos recombinantes foram expressos como proteínas de fusão com uma proteína marcadora (GST) e purificados de extratos proteicos totais da bactéria por cromatografia de afinidade. Os antígenos recombinantes obtidos tiveram a porção correspondente à GST removida por clivagem proteolítica. Devido à contaminação destes antígenos com lipopolissacarídeos (LPS) antigênicos oriundos da parede celular da bactéria, foi necessária ainda a aplicação de uma etapa adicional de purificação, para extração de LPS, antes da realização de ensaios imunológicos. Devido às características diferenciais de hidropaticidade dos antígenos, diferentes protocolos para a remoção de LPS tiveram que ser padronizados e aplicados a cada uma delas. Os antígenos recombinantes purificados e livres de LPS foram então utilizados em ensaios de imunização de camundongos, para avaliação de imunogenicidade. Os resultados obtidos demonstraram que os antígenos recombinantes MH1, MH2 e MH3 são imunogênicos, tendo sido demonstrada a capacidade dos três de induzir uma resposta imune humoral (produção de imunoglobulinas específicas). Além disso, a resposta celular induzida pelos antígenos recombinantes está sendo avaliada com base na produção de citocinas por

esplenócitos (células do baço) dos animais imunizados. Após a demonstração inicial da imunogenicidade dos antígenos MH1, MH2 e MH3, as respectivas CDS também foram clonadas em vetor plasmidial de expressão em células de mamíferos. Os clones (construções de DNA) resultantes serão testados através de ensaios de imunização de camundongos com DNA, para avaliação do potencial destas construções para utilização no desenvolvimento de vacinas de DNA. Após a conclusão da avaliação imunológica em camundongos, os antígenos recombinantes e as construções de DNA mais promissoras serão utilizadas, individualmente ou em diferentes combinações, em ensaios preliminares de imunização em suínos.

Financiamento: MAPA/CNPq; PIBITI/CNPq; CAPES