

272

CLONAGEM DE GENES CODIFICADORES DE PROTEÍNAS POTENCIALMENTE ANTIGÊNICAS DE M. HYOPNEUMONIAE EM E. COLI POR RECOMBINAÇÃO IN VIVO.

Luciane Schons da Fonseca, Desirée Cigaran Schuck, Arnaldo Zaha, Henrique Bunselmeyer Ferreira (orient.) (UFRGS).

A pneumonia enzoótica suína, causada pela bactéria *Mycoplasma hyopneumoniae*, traz prejuízos aos suinocultores de todo o mundo. O tratamento da doença não é totalmente efetivo e a prevenção é feita geralmente através de vacinas compostas de bacterinas, que possuem eficiência limitada. Nesse contexto, a produção de vacinas a partir de proteínas recombinantes torna-se uma alternativa, desde que haja um repertório satisfatório de antígenos de *M. hyopneumoniae* caracterizados e disponíveis para testes de imunoproteção. O presente estudo tem por objetivo a clonagem, expressão e caracterização imunológica dos produtos de três seqüências codificadoras (CDS) de *M. hyopneumoniae* da cepa patogênica 7448, denominadas MHP0089, MHP0211 e MHP0278. As CDSs foram selecionadas a partir da análise *in silico* da seqüência do genoma da bactéria, por codificarem proteínas potencialmente localizadas na superfície antigênicas e/ou relacionadas com a virulência da bactéria. Com base nas seqüências genômicas, foram projetados primers visando à amplificação de porções selecionadas de cada CDS, incluindo seqüências codificadoras de domínios extracelulares. Os primers projetados incluíram também seqüências de nucleotídeos homólogas ao vetor plasmidial de expressão pGEX-4T-3, necessárias à clonagem por recombinação homóloga *in vivo*. Os amplicons das três CDS já foram obtidos por PCR, utilizando DNA genômico de *M. hyopneumoniae* 7448 como molde, e serão agora transformados, juntamente com o vetor linearizado, em células de *E. coli* KC8 quimicamente competentes, nas quais ocorrerá a clonagem por recombinação. Os plasmídeos recombinantes serão depois utilizados para transformar *E. coli* BL21, na qual será feita a expressão das proteínas recombinantes correspondentes. Estas proteínas serão posteriormente avaliadas quanto a sua antigenicidade, por ELISA frente a soros de suínos com PES, e quanto a sua imunogenicidade, em ensaios de imunização de camundongos.