

431

CLONAGEM, EXPRESSÃO E CARACTERIZAÇÃO IMUNOLÓGICA DE UM ANTÍGENO RECOMBINANTE DE MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE. Ana Paula Metz Costa, Desirée Schuck, Taise Bresolin, Anelise Silva, Cláudio Xavier Machado, Arnaldo Zaha, Henrique Bunselmeyer*Ferreira (orient.) (UFRGS).*

Responsável pelas maiores perdas econômicas da indústria de carne suína mundial, a pneumonia enzoótica (PE) tem como agente etiológico a bactéria *Mycoplasma hyopneumoniae*. A partir da disponibilização, pela Rede Sul de Análise de Genomas e Biologia Estrutural, das seqüências completas dos genomas das cepas J (não-patogênica) e 7448 (patogênica) de *M. hyopneumoniae* e da análise proteômica em andamento, tornou-se viável a identificação de potenciais fatores de virulência e antígenos para diagnóstico e/ou vacinação. Neste trabalho, o gene que codifica uma proteína que foi reconhecida por soro de suínos imunizados com extratos de *M. hyopneumoniae* em testes preliminares e que tem ortólogos envolvidos com virulência em outros patógenos foi selecionado para clonagem e expressão. A partir de análise *in silico*, foram selecionados os segmentos da CDS correspondente, definindo regiões potencialmente codificadoras de polipeptídeos solúveis e livres de códons TGA, que, em micoplasmas codificam triptofano. Foram amplificados por PCR três segmentos, de 627 pb (AgMh1), 1068 pb (AgMh2) e 1667 pb (AgMh3), que foram clonados no vetor de expressão pGEX-4T-3. O clone recombinante pGEX-AgMh2 já foi expressado em *Escherichia coli*, produzindo uma proteína recombinante de aproximadamente 40 kDa, correspondente aos aminoácidos 212-567 da proteína nativa. A proteína recombinante foi purificada por cromatografia de afinidade e, por imunoblot, foi verificado que ela é reconhecida por soros de suínos e coelhos imunizados com extrato de *M. hyopneumoniae* e também por soro de suíno infectado experimentalmente com a bactéria. A proteína recombinante está agora sendo avaliada em ELISA, frente um painel de soros de suínos, incluindo amostras de animais com PE ou com infecções com outros micoplasmas e de animais livres de micoplasmas (SPF).