

432

EXPRESSÃO DA TIOL-PEROXIDASE DE MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE EM ESCHERICHIA COLI. *Cláudio Xavier Machado, Desirée Schuck, Paulo Marcos Pinto, Ana Paula Metz Costa, Arnaldo Zaha, Henrique Bunselmeyer Ferreira (orient.) (UFRGS).*

Mycoplasma hyopneumoniae é a bactéria causadora da pneumonia enzoótica suína, que afeta o rebanho suíno em nível mundial. Durante o processo de infecção, o sistema imune de organismos afetados produz espécies reativas de oxigênio (ERO), conhecidas por causarem uma variedade de lesões celulares, como uma das estratégias para neutralização do patógeno. Os patógenos, por sua vez, desenvolveram mecanismos de defesa para minimizar os efeitos nocivos das ERO. *M. hyopneumoniae* possui um sistema de proteção contra ERO aparentemente deficiente, no qual estão ausentes muitos dos antioxidantes caracterizados em outras espécies bacterianas. Entretanto, através da análise *in silico* dos dados do seqüenciamento do genoma de uma cepa patogênica (7448) de *M. hyopneumoniae*, foi identificada a seqüência de DNA codificadora (CDS) de uma provável tiol-peroxidase (TPx), que pode estar envolvida no sistema de proteção contra ERO. O objetivo deste trabalho é a clonagem e a expressão em *Escherichia coli* desta TPx, para posterior estudo da proteína recombinante. Como em *M. hyopneumoniae* o códon TGA (de terminação em *E. coli*) codifica triptofano e há um códon TGA na CDS da TPx, foi utilizada uma estratégia de mutagênese sítio-dirigida, baseada em PCR com uso de um megaprimer, para alteração deste códon para TGG. O amplicon mutado foi clonado no vetor pUC18 e a mutagênese foi confirmada por seqüenciamento. A seqüência mutada foi então subclonada no vetor pGEX-4T-1 e expressada na forma de fusão com glutathiona-S-transferase (GST). Experimentos de imunoblot com anticorpo monoclonal anti-GST confirmaram a expressão da proteína de fusão. A TPx recombinante está sendo purificada e será utilizada em ensaios para sua caracterização estrutural e funcional.