

450

EXPRESSÃO E PURIFICAÇÃO DA PROTEÍNA P36 DE MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE. Fábio Rafael Wasem Lopes, Marilene Henning Vainstein, Henrique Bunselmeyer Ferreira (orient.) (UFRGS).

A pneumonia micoplásmica suína (PMS), causada por *Mycoplasma hyopneumoniae*, é uma doença de distribuição mundial, caracterizada por baixa mortalidade e alta morbidez, sendo responsável por grandes perdas econômicas no setor de suinocultura. Os métodos de diagnósticos atualmente existentes para PMS apresentam eficiência limitada por problemas de especificidade e sensibilidade. O objetivo deste trabalho é expressar em *Escherichia coli* a proteína P36, previamente descrita como antígeno espécie-específico, e utilizá-la na padronização de testes para imunodiagnóstico da PMS. Com base nos dados obtidos a partir do seqüenciamento do genoma de *M. hyopneumoniae* 7448, a ORF correspondente à P36 foi identificada, amplificada a partir de um dos clones utilizados para seqüenciamento e clonada no vetor pUC18. Após, foi feita a sua subclonagem no vetor pGEX-4T1 e transformação em *E. coli* BL21, para expressão na forma de fusão com glutathione-S-transferase (GST). Foram otimizadas as condições para expressão e solubilização da proteína, para posterior purificação. Os resultados indicam como melhor condição para expressão a multiplicação da bactéria a 37°C, e a indução da expressão da P36 recombinante a 37°C, por 16h, utilizando IPTG em concentração final de 0,1 mM. Mesmo nas condições otimizadas, a P36-GST foi produzida predominantemente na forma insolúvel e, mesmo após tratamento com Triton X-100 ou uréia, não foi observada uma solubilização de mais do que 30% da proteína produzida. Além disso, a fração solubilizada não foi capaz de ligar-se à coluna de afinidade de glutathione-Sepharose 4B, na purificação. Novos protocolos para solubilização da P36-GST serão testados e, alternativamente, a P36 será expressada a partir de vetor da série pET, com uma cauda de histidinas. (CNPq/Fapergs).