

274

CLONAGEM, EXPRESSÃO E PURIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS SECRETADAS DE MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE. Vanessa Galli, Simone Simionatto, Silvana Beutinger Marchioro, Daiane Hartwig, Odir Antonio Dellagostin (orient.) (UFPEL).

O *Mycoplasma hyopneumoniae* é o agente etiológico da pneumonia enzoótica suína (PES), uma das doenças mais significantes economicamente do setor suinícola. As vacinas disponíveis são compostas por bacterinas as quais, apresentam elevado custo de produção e não controlam totalmente a infecção. Potenciais antígenos estão sendo testados em diferentes sistemas de vacinação, no entanto apresentaram somente proteção parcial. A identificação de novos alvos potencialmente antigênicos representa um passo importante na definição de estratégias alternativas para o controle e profilaxia desta doença. Este trabalho teve como objetivo a clonagem, expressão e purificação de proteínas secretadas de *M. hyopneumoniae* em *E. coli*, visando o desenvolvimento de uma vacina de subunidade contra a PES. O Programa de Investigações de Genomas Sul (PIGS) identificou 41 seqüências codificadoras (CDS) de proteínas secretadas de *M. hyopneumonia* (cepa 7448). Quarenta e três alvos pertencentes a 32 CDS diferentes foram selecionados, amplificados por PCR e submetidos à clonagem direcional no vetor Champion pET200D/TOPO. As seqüências que continham códons TGA foram submetidas à mutagênese sítio-dirigida para substituição do códon TGA por TGG e posteriormente clonadas no mesmo vetor. Trinta e nove alvos, representando 32 CDS de proteínas secretadas foram clonados. Vinte e uma proteínas recombinantes foram purificadas por cromatografia de afinidade no sistema automatizado AKTA-Prime. Estas proteínas purificadas serão testadas quanto a seu potencial antigênico e imunogênico através de: avaliação da resposta imune de camundongos inoculados com estes antígenos, teste de inibição de crescimento *in vitro* e, reatividade destas proteínas confrontadas com soro de suínos naturalmente infectados.