

Sessão 29  
**Genética Molecular B**

266

**CLONAGEM E EXPRESSÃO DA METIONINA-AMINOPEPTIDASE DE MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE EM ESCHERICHIA COLI.** Ana Paula Metz Costa, Paulo Marcos Pinto, Desirée Schuck, Cláudio Xavier Machado, Luciane Schons Fonseca, Arnaldo Zaha, Henrique Bunselmeyer Ferreira (*orient.*) (UFRGS).

Responsável pelas maiores perdas econômicas da suinocultura mundial, a pneumonia enzoótica (PE) é causada pela bactéria *Mycoplasma hyopneumoniae* e se caracteriza por tosse seca, crescimento lento e baixa mortalidade, apesar de altas taxas de morbidade e do aumento da susceptibilidade a infecções secundárias. O seqüenciamento completo dos genomas das cepas J (não-patogênica) e 7448 (patogênica) de *M. hyopneumoniae*, feito pela Rede Sul de Análise de Genomas e Biologia Estrutural, e a análise proteômica em andamento, forneceram dados para a identificação de genes classificados como possíveis fatores de virulência da bactéria. Dentre estes genes, está o da metionina-aminopeptidase (MAP), protease que catalisa a remoção da metionina inicial de proteínas recém-sintetizadas. Esta modificação pós-traducional é fundamental para os processos celulares e a identificação de inibidores específicos da MAP de *M. hyopneumoniae* pode representar uma alternativa terapêutica. O objetivo desse trabalho é a clonagem e expressão da MAP de *M. hyopneumoniae*, para sua posterior caracterização estrutural e funcional. Para esse fim, a seqüência codificadora completa da MAP foi amplificada com primers específicos a partir de clones de uma biblioteca genômica e o produto de amplificação foi clonado no vetor pGEX-4T3, com a clonagem e a orientação do inserto sendo confirmadas por seqüenciamento. A MAP recombinante foi expressada em *E. coli* BL21 Codon Plus RP na forma de fusão com glutationa-S-transferase (GST) e, purificada por cromatografia de afinidade em coluna de glutationa-Sepharose 4B. Após a remoção da porção correspondente à GST, a MAP recombinante foi inicialmente utilizada para a imunização de camundongos visando à produção de anti-soro específico. Este anti-soro será inicialmente utilizado para verificar a expressão da MAP por *M. hyopneumoniae* em cultura e em situações de infecção. (CNPq).