



**Universidade:
presente!**

UFRGS
PROPEAQ

XXXI SIC

CONHECIMENTO FORMACAO INOVACAO
Salão UFRGS 2019

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

Evento	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2019
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Análise de proteínas de função desconhecida de Mycoplasma hyopneumoniae 7448 para a identificação de novos determinantes da pneumonia enzoótica suína
Autor	BRYAN AUGUSTO DA ROSA TAVARES
Orientador	HENRIQUE BUNSELMEYER FERREIRA

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
XXXI Salão de Iniciação Científica

Análise de proteínas de função desconhecida de *Mycoplasma hyopneumoniae* 7448 para a identificação de novos determinantes da pneumonia enzoótica suína

Bolsista de iniciação científica: Bryan Augusto da Rosa Tavares.
Orientador: Henrique Bunselmeyer Ferreira.
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS.

Mycoplasma hyopneumoniae é uma bactéria que habita o trato respiratório de suínos e é o agente etiológico da pneumonia enzoótica suína, doença crônica que gera significativas perdas econômicas à indústria de suínos em todo mundo. A análise dos genomas de diferentes linhagens de *M. hyopneumoniae* revelou uma grande proporção de sequências de DNA codificadoras (CDSs) hipotéticas, cujos produtos proteicos são de função desconhecida. O conjunto destas proteínas de funções ainda desconhecidas constitui um importante reservatório de potenciais fatores de virulência de *M. hyopneumoniae*, ainda não identificados e descritos. O objetivo deste trabalho foi realizar a anotação funcional *in silico* do repertório de CDSs/proteínas de função desconhecida de *M. hyopneumoniae* 7448, visando à identificação de novos potenciais fatores de virulência, para posterior caracterização de um deles. No total, foram analisadas 277 CDSs de função desconhecida de *M. hyopneumoniae* 7448. Para cada uma delas, foram realizadas predições de localização subcelular, de associação à virulência e de possível função. Um conjunto de 81 CDSs teve anotação funcional, predição de localização subcelular e foi associado a virulência. Dentre estas, foi selecionada a CDS *MHP7448_0148*, codificadora de uma proteína que contém um domínio funcional de “heat shock protein 33” (hsp33), para caracterização funcional e imunológica. Esta CDS inicialmente hipotética já foi validada a partir da detecção de seu produto proteico predito em estudos proteômicos prévios. Além disso, foi demonstrado que a proteína *MHP7448_0148* é diferencialmente expressa em situações de estresse oxidativo e choque térmico. Estes resultados prévios sugerem que a proteína pode atuar na resposta de *M. hyopneumoniae* 7448 a estresses. A CDS *MHP7448_0148* foi então clonada no vetor de expressão pET-15b e diferentes linhagens de *Escherichia coli* foram transformadas com o plasmídeo recombinante resultante (pET_Mhp7448_0148). As condições para expressão da proteína recombinante (rMhp7448_0148) foram otimizadas, tendo sido obtido maior rendimento em *E. coli* BL21 Star (DE3). Foi verificado que a rMhp7448_0148 foi produzida predominantemente na forma insolúvel, o que exigiu a padronização de protocolo de solubilização utilizando o detergente sarcosil. A seguir, foi tentada a purificação da rMhp7448_0148 por cromatografia de afinidade de metal imobilizado em coluna de resina com níquel. Entretanto, mesmo concentrações crescentes de imidazol foram incapazes eluir a rMhp7448_0148 purificada, uma vez que esta proteína permaneceu interagindo com a resina cromatográfica. Protocolos alternativos de purificação serão agora testados, incluindo o teste com diferentes detergentes e também a partir dos corpos de inclusão da fração insolúvel. Uma vez purificada, a rMhp7448_0148 será avaliada em ensaios funcionais, ensaios de agregação proteica, e imunológicos, para a determinação de antigenicidade e imunogenicidade.