

Bactérias do gênero *Mycoplasma* pertencem à classe dos Mollicutes e abrangem cerca de 100 espécies. São normalmente encontradas associadas a hospedeiros eucarióticos, tais como mamíferos, peixes, répteis, entre outros. Em especial a espécie *Mycoplasma hyopneumoniae* encontra-se normalmente associada a suínos, causando uma doença respiratória denominada pneumonia enzoótica suína. Essa doença vem trazendo perdas à produção de suínos e causando grandes danos econômicos à indústria suinícola. *M. hyopneumoniae* caracteriza-se por possuir um genoma de tamanho reduzido com alto conteúdo de adenina e timina (A+T) e ausência de parede celular. Os micoplasmas possuem um genoma limitado apresentando, conseqüentemente, um repertório restrito de proteínas. Análises estruturais de proteínas, realizadas *in silico*, demonstraram que Open reading frames (ORFs) anotadas como hipotéticas apresentavam motivos proteicos relacionados a atividades metabólicas, como a rota de síntese de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) e flavina e adenina dinucleotídeo (FAD), consideradas inexistentes em *M. hyopneumoniae* pela anotação do genoma. Portanto, o objetivo do presente estudo é clonar e expressar as sequências gênicas de *M. hyopneumoniae* linhagem 7448, relacionadas à rota de síntese de NAD e FAD em vetores de expressão de *Escherichia coli* para futuras análises funcionais. Foram sintetizados *primers* para a amplificação das sequências codificadoras da ORF MHP7448_0278, o qual apresenta motivos proteicos relacionados à biossíntese de FAD, e das ORFs MHP7448_0394 e MHP7448_0476 que apresentam motivos relacionados à biossíntese de NAD. Para a síntese dos *primers* foi considerada a característica diferencial dos micoplasmas de apresentarem o códon TGA codificando triptofano, diferentemente de *E. coli*, onde esse códon é traduzido como códon de terminação. Mutações de códons TGA para TGG foram inseridas utilizando a técnica de *overlap extension* PCR através de *primers* mutagênicos. Os genes MHP7448_0278 e MHP7448_0394 apresentam um codon TGA, enquanto o gene MHP7448_0476 apresenta dois destes códons na sua sequência. As amplificações dos fragmentos foram realizadas através da técnica de PCR. Os fragmentos, pertencentes a um mesmo gene, depois de purificados, foram unidos, novamente com o emprego da PCR, obtendo-se por fim os três genes completos, com suas respectivas mutações sítio-dirigidas. Cada gene amplificado será clonado em vetor pGEX-4T3 através da metodologia de recombinação homóloga e a expressão será testada em diferentes linhagens celulares de *E. coli*. A purificação das proteínas recombinantes será realizada com o emprego de resina de glutationa, e estas serão submetidas a vários ensaios enzimáticos para a possível predição da sua funcionalidade.