

226

EXPRESSÃO EM ESCHERICHIA COLI DA HSP70 DE MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE.*Ana Paula Metz Costa, Paulo Marcos Pinto, Gustavo Chemale, Aline Zandonai, Claudio Xavier Machado, Henrique Bunselmeyer Ferreira, Arnaldo Zaha (orient.) (UFRGS).*

A pneumonia enzoótica suína (PES), causada por *Mycoplasma hyopneumoniae*, é responsável por prejuízos na suinocultura, causando crescimento lento e alta morbidade, apesar da baixa mortalidade. As atuais técnicas de diagnóstico e vacinação apresentam eficiência relativamente baixa, tornando precários o controle e a prevenção da doença. A partir do seqüenciamento do genoma de duas cepas de *M. hyopneumoniae* (J e 7448) pela Rede Sul de Análise de Genomas e Biologia Estrutural e pelo Projeto Genoma Brasileiro, foi iniciado um trabalho visando à identificação de genes que codificam proteínas potencialmente antigênicas da bactéria. Como parte deste trabalho, foram selecionados genes de *M. hyopneumoniae* para clonagem e expressão em *E. coli* e produção de proteínas recombinantes. Um dos genes selecionados foi o que codifica a proteína HSP70, uma chaperona já caracterizada como antígeno na literatura, e reconhecida por soro de suíno imunizado com *M. hyopneumoniae*. Em *M. hyopneumoniae*, o códon UGA (terminação em *E. coli*) codifica triptofano. Devido à presença de um códon UGA na seqüência codificadora da HSP70 de *M. hyopneumoniae*, optou-se por expressar as porções amino-terminal (NT, 210 aa) e carboxi-terminal (CT, 390 aa) separadamente. Utilizando *primers* específicos, as seqüências codificadoras das porções NT e CT foram amplificadas a partir de clones da biblioteca genômica. Os fragmentos resultantes da amplificação (630 pb e 1170 pb, respectivamente) foram clonados no vetor de expressão pGEX e a clonagem dos mesmos foi confirmada por PCR. Os próximos passos serão a verificação da expressão das proteínas recombinantes a partir dos clones obtidos, a otimização das condições de expressão, a purificação das mesmas e a análise de seu caráter antigênico *in vitro* e *in vivo*. (PIBIC).