

**DESIGN DE UM GENE SINTÉTICO PARA EXPRESSÃO DE UMA QUIMERA DE  
ANTÍGENOS DE *Mycoplasma hyopneumoniae***

**Autor(es):** FISCH, Andressa; MARCHIORO, Silvana B.; GALLI, Vanessa; SIMIONATTO, Simone; GOMES, Charles Klazer ; DELLAGOSTIN, Odir; CONCEIÇÃO, Fabricio R.

**Apresentador:** Andressa Fisch

**Orientador:** Fabrício Rochedo Conceição

**Revisor 1:** Sibeles Borsuk

**Revisor 2:** Daniela Fernandes Ramos

**Instituição:** Universidade Federal de Pelotas

**Resumo:**

*Mycoplasma hyopneumoniae* é o agente etiológico da Pneumonia Micoplásmica Suína (PMS), uma doença que causa significativas perdas econômicas à suinocultura mundial. A vacinação parece ser a forma mais efetiva para controlar a PMS, no entanto, as vacinas disponíveis no mercado conferem apenas proteção parcial ao rebanho. Potenciais antígenos estão sendo testados em diferentes sistemas de vacinação, no entanto, também têm conferido proteção parcial quando avaliados individualmente. A fusão de alguns destes antígenos pode incrementar o controle da PMS. Assim, este trabalho teve como objetivo o design de um gene sintético para expressão de uma quimera recombinante composta pela fusão dos antígenos R1 (P97), P42 e NrdF de *M. hyopneumoniae* com a subunidade B da enterotoxina termolábel de *Escherichia coli* (LTB), um potente adjuvante da imunidade de mucosa. O gene de 1.500 pb, que codifica para a quimera LTB-R1-P42-NrdF, foi construído *in silico* com o auxílio do programa Vector NTI (Invitrogen). Para isto, foram utilizadas seqüências gênicas com códons preferenciais de *Pichia pastoris*, visando otimizar a expressão da quimera em sistemas heterólogos de expressão de proteínas. Foram adicionados sítios para BamHI (clonagem no vetor de expressão em *E. coli* pAE) e EcoRI (clonagem nos vetores de expressão em *P. pastoris* pPICZB e pPICZ#61537;B) na região 5' do gene, e para KpnI na região 3'. Também foi adicionado o códon de iniciação ATG para a expressão citoplasmática em *P. pastoris* (pPICZB), caso ocorram glicosilações na quimera quando utilizado o vetor pPICZ#61537;B, o qual permite a secreção da proteína heteróloga. Adicionou-se também a seqüência de Kosak (ACGAT), visando otimizar a tradução do gene sintético em *P. pastoris*. Tentando evitar a glicosilação da quimera, modificações nos sítios de N e O-glicosilações de levedura foram realizadas. A síntese do gene foi realizada pela empresa Epoch Biolabs® (USA), a qual enviou o gene clonado no plasmídeo pUC18. Este plasmídeo foi digerido com as enzimas BamHI e KpnI, gerando bandas de 1.500 e 2.700 pb, confirmando a liberação da quimera LTB-R1-P42. O gene será clonado em vetores de expressão em *E. coli* e *P. pastoris*, possibilitando a produção da quimera recombinante que será avaliada em testes de imunização.