



CONSTRUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PLASMÍDEOS RECOMBINANTES PARA EXPRESSÃO, EM EUKARIOTOS, DE PROTEÍNAS DE *Leptospira interrogans*

Autor(es): SEIXAS NETO, Amilton Clair Pinto; XIMENDES, Carolina; FELIX, Samuel Rodrigues; CERQUEIRA, Gustavo Maia; GRASSMANN, André Alex; DELLAGOSTIN, Odir Antônio; SILVA, Everton Fagonde da

Apresentador: Carolina Ximendes dos Santos

Orientador: Éverton Fagonde da Silva

Revisor 1: Silvana Marchioro

Revisor 2: Simone Simionatto

Instituição: Universidade Federal de Pelotas

Resumo:

A leptospirose é uma doença infecciosa negligenciada causada por bactérias do gênero *Leptospira*. Esta zoonose possui uma ampla distribuição geográfica e atualmente é reconhecida como emergente em alguns países. Vacinas estão disponíveis comercialmente. Entretanto, apresentam baixa eficácia, são sorovar específicas e não conferem proteção adequada. O estudo de vacinas recombinantes aumenta as chances de obtenção de candidatos vacinais capazes de conferir imunoproteção de amplo espectro. O objetivo deste trabalho foi construir e caracterizar plasmídeos recombinantes, para a expressão em eucariotos, contendo as regiões codificadoras de alvos a serem avaliados quanto ao potencial protetor contra leptospirose. O DNA genômico de *Leptospira interrogans* sorovar Copenhageni cepa Fiocruz L1-130 foi usado como molde para amplificação por PCR das seqüências codificadoras das proteínas LIC10011, LIC11947, LIC10260, LIC10666 e LIC10463. Os produtos amplificados foram clonados no vetor de expressão em eucariotos pTarget (Promega) conforme recomendação do fabricante. As construções foram propagadas em *Escherichia coli* cepa Top10 (Invitrogen) e inicialmente purificadas utilizando kit de extração de DNA em pequena-escala (GE Healthcare). A orientação dos insertos foi realizada por análise de restrição e PCR, e em ambos os testes os produtos das reações foram analisados por eletroforese em gel agarose 1%. Nas análises de restrição foram utilizadas enzimas que reconhecem sítios dentro do vetor e do inserto. Na amplificação por PCR foram empregados oligonucleotídeos que anelam dentro da região promotora, no vetor, e na extremidade 3' da região codificadora. O resultado das análises de restrição e da PCR indicou que todas as construções foram bem-sucedidas. Desta forma obtivemos os seguintes vetores recombinantes: pTarget-LIC10011, -LIC11947, -LIC10260, -10666 e -LIC10463. Estes plasmídeos serão produzidos em larga-escala e servirão para avaliação dos alvos clonados quanto ao seu potencial imunoprotetor na forma de vacinas de DNA.