

## **PRODUÇÃO DE ANTICORPOS MONOCLONAIS CONTRA ANTÍGENOS DE *Babesia bigemina***

Faleiros, M. (1); Gomes, A. C. (2); Farias, S. (3); Kessler, R. H. (4); Madruga, C. R. (4). (1) Estagiária, Curso de Biologia da UFMS, mayara@cnpqc.embrapa.br. (2) Bolsista AT- CNPq, (3) Professora, Centro de Biotecnologia, UFRGS, (4) Pesquisador, Embrapa Gado de Corte.

A tristeza parasitária tem relevância econômica, sendo necessário o estabelecimento de medidas preventivas, dentre as quais, o diagnóstico é fundamental. Até o presente, a maioria dos testes diagnósticos utiliza antígenos brutos. Entretanto, para aumentar a sensibilidade e especificidade destes têm sido empregadas ferramentas de biologia molecular, celular e de processos bioquímicos. Nesse sentido, os anticorpos monoclonais têm uma função relevante, pois podem atuar na purificação de antígenos por cromatografia de afinidade e no desenvolvimento de teste de imunoadsorção enzimática competitivo (ELISA-C). Portanto, esse projeto tem como objetivo produzir anticorpos monoclonais anti-*B. bigemina*. Com essa finalidade camundongos Balb/c foram imunizados com antígeno bruto e peptídeo sintético de uma proteína de 200 kilodaltons desse hemoprotozoário. O antígeno bruto foi obtido de sangue com uma parasitemia de 33%, que foi solubilizado mecanicamente por meio de um disruptor ultra-sônico. Dois peptídeos foram sintetizados (EAKEKAEREAKE e AEREAKEKAERE), sendo que o último por ser um hapteno foi conjugado. Esse material antigênico foi emulsificado com adjuvante de Freund para imunização dos camundongos. A resposta humoral dessa imunização foi avaliada pela imunofluorescência indireta e teste de imunoadsorção enzimática (ELISA). A fusão para produção dos hibridomas foi realizada com linfócitos B do baço dos camundongos imunizados e mieloma SP-2 obtido de líquido ascítico de camundongos previamente sensibilizados com pristane. Os hibridomas foram obtidos após seleção em meio de Dulbecco's modificado por Eagle com 10 % de soro bovino e hipoxantina, aminopterina e timidina (DMEM-HAT) e DMEM-HT. Os hibridomas foram cultivados e, posteriormente clonados, por diluição limite. Após a multiplicação desses clones os anticorpos do sobrenadante das culturas foram concentrados por precipitação salina e diálise. Na seqüência do estudo, os anticorpos serão purificados em uma coluna de cromatografia com proteína G e a classe de imunoglobulina será determinada com um kit tipagem de imunoglobulinas de camundongo. (Projeto financiado pela FINEP e CNPq).