

## NOME DO PRIMEIRO AUTOR

MARRIELEN APARECIDA BENITES CAITANO



5<sup>a</sup> Jornada Científica da Embrapa Gado de Corte  
21 a 23 de outubro de 2009

Campo Grande - MS

## TÍTULO

**CARACTERIZAÇÃO DA DELEÇÃO DO GENE *pgk* EM UMA CEPA VACINAL GENETICAMENTE MODIFICADA DE *Brucella abortus***

## AUTORES

CAITANO, M. A. B. (1)\*; ROSINHA, G. M. S. (2); ELISEI, C. (3); BARBOSA, B. (4); CUSTÓDIO, M. S. (5); JANK, C. C. (6); RAMIRES, L. S. (7); ARAÚJO, F. R. (2); SOARES, C. O. (2)

## CHAMADA DE RODAPÉ

(1) Acadêmica de Biologia Uniderp/Anhanguera, Bolsista IC / Embrapa Gado de Corte, marrielen@cnpqc.embrapa.br. (2) Pesquisador da Embrapa Gado de Corte. (3) Bolsista DTI/CNPq. (4) Acadêmica de Biologia da Uniderp/Anhanguera, Bolsista IC/ Embrapa Gado de Corte. (5) Acadêmica de Biologia da UCDB, Bolsista IC/ Embrapa Gado de Corte. (6) Acadêmica de Biologia da UFMS, Bolsista IC/ Embrapa Gado de Corte. (7) Bolsista DCR/ CNPq na Embrapa Gado de Corte.

## RESUMO

A brucelose, causada pela bactéria *Brucella abortus*, é uma das doenças re-emergentes mais importantes mundialmente na atualidade, afetando diversas espécies animais e o homem. Também é considerada uma das principais causas de perdas econômicas diretas na pecuária, além de ser uma barreira para o comércio internacional de animais vivos, principalmente para países em desenvolvimento. Por estes motivos o Ministério da Agricultura e Pecuária vem incentivado o desenvolvimento de novas vacinas e formas de diagnóstico contra a brucelose. Neste trabalho objetiva-se expressar o gene *pgk* de *B. abortus* para a caracterização da cepa vacinal geneticamente modificada de *B. abortus*, 2308 $\Delta$ pgk, e utilização da proteína PGK em testes sorológicos. Para isto, foi realizada a extração do DNA genômico de *B. abortus* S2308 e o gene *pgk* foi amplificado pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) a partir de *primers* delineados com base na seqüência depositada no GenBank (acesso nº AF256214.1). O produto amplificado apresentou um fragmento de 1190 pares de bases, o qual será ligado ao plasmídeo pGEM-T e este inserido em linhagem de *Escherichia coli*. Para a expressão do gene, o plasmídeo gerado (pGEMT-pgk) será digerido com enzimas de restrição *apropriadas*, para liberação do gene *pgk* com extremidades coesivas e este produto será ligado ao plasmídeo pET-47, previamente digerido com as mesmas enzimas de restrição e utilizado na transformação em *E. coli*. Após a certificação do plasmídeo recombinante (pET47-pgk) este será transformado em *E. coli*, linhagem Roseta e será induzida a expressão da proteína PGK com IPTG, em clones recombinantes. Após a confirmação da produção da proteína recombinante esta será purificada e espera-se padronizar ensaios de *Western blot* para a caracterização da cepa mutante 2308 $\Delta$ pgk e padronizar o diagnóstico de ELISA, onde será avaliado o seu potencial como proteína marcadora para diferenciação de animais vacinados e infectados a campo.

## PARCERIA/APOIO FINANCEIRO

Embrapa Gado de Corte, CNPq e Fundect

\* autor correspondente