

NOME DO PRIMEIRO AUTOR**ODINÉIA FORNER**

5^a Jornada Científica da Embrapa Gado de Corte
21 a 23 de outubro de 2009

Campo Grande - MS

TÍTULO

IDENTIFICAÇÃO DO GENE *pccB* A PARTIR DA VARREDURA DE UMA BIBLIOTECA GENÔMICA DE *Corynebacterium pseudotuberculosis* VISANDO UMA VACINA CONTRA LINFADENITE CASEOSA

AUTORES

FORNER, O. (1)*; ROSINHA, G. M. S. (2); ELISEI, C. (3); SOARES, C. O. (2); ARAÚJO, F. R. (2); FRAGOSO, S. P. (4); SHIMADA, M. K. (5)

CHAMADA DE RODAPÉ

(1) Doutoranda do PBCM da UFPR, odiforner@cnpqg.embrapa.br. (2) Pesquisador da Embrapa Gado de Corte. (3) Bolsista DTI-CNPq na Embrapa Gado de Corte. (4) Pesquisador do Instituto Carlos Chagas / Fiocruz. (5) Bolsista Pós-Doc - Faperj

RESUMO

Corynebacterium pseudotuberculosis é o agente etiológico da linfadenite caseosa (LC), que acomete principalmente ovinos e caprinos. Esta doença é causadora de grandes problemas na ovinocaprinocultura. Diversas pesquisas tem sido realizadas na busca de uma vacina eficaz contra a LC. Estudos recentes utilizando um gene reporter em *C. pseudotuberculosis*, identificou a expressão do gene *pccB* (cadeia β da propionil CoA carboxilase) em macrófagos, indicando um possível envolvimento na virulência deste patógeno e um bom antígeno a ser explorado no desenvolvimento de uma nova estratégia vacinal. Como a sequência deste gene ainda não está disponível em banco de dados, o objetivo deste trabalho foi realizar varredura em uma biblioteca genômica de *C. pseudotuberculosis* para identificação completa da sequência do gene *pccB*. Uma sonda foi gerada a partir de um fragmento parcial do gene *pccB* marcado com [α^{32} P]dCTP. A biblioteca genômica foi plaqueada em placas de lise para obter 2×10^3 pfu/placa e em seguida transferida para membranas de nylon previamente tratadas com soluções desnaturante, neutralizante e de pré-hibridização, a fim de, posteriormente, reagir com a sonda radioativa seguido da exposição das membranas a um filme de raio X. Dois clones positivos foram isolados e utilizados como *template* em reação de PCR, utilizando *primers* específicos da biblioteca genômica, gerando produtos de 3 Kb que foram sequenciados e analisados por BlastX, verificando-se 82% de identidade com o gene *pccB2* de *C. diphtheriae*. Acreditando que haja sintenia entre as duas espécies mencionadas, foram desenhados *primers* com genes que flanqueiam o gene *pccB2* de *C. diphtheriae*. Esses foram utilizados como iniciadores em reação de PCR, tendo como molde o DNA genômico de *C. Pseudotuberculosis*, gerando um fragmento de 2,1 Kb que foi clonado no vetor *pGEM-T easy*, sequenciado e analisado por BlastX. Resultados preliminares indicam que novos *primers* precisam ser desenhados para concluir a sequência deste gene.

PARCERIA/APOIO FINANCEIRO (Colocar o nome da instituição parceira ou de apoio financeiro)

Embrapa Gado de Corte, Instituto Carlos Chagas / Fiocruz, CNPq, CAPES/REUNI, BNB e Finep

* autor correspondente