

Clonagem do gene do capsídeo do Pineapple mealybug associated virus-1 para expressão de proteína e produção de antissoros

João Paulo dos Santos Oliveira¹; Keila Cidreira dos Santos²; Eduardo Chumbinho de Andrade³

¹Estudante de Biomedicina da FAMAM, bolsista IC-Embrapa; ²Estudante de mestrado em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; ³Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura. E-mails: jpaolo_sanliveira@hotmail.com, keubiomedicina@hotmail.com, eandrade@cnpmf.embrapa.br

O *Pineapple Mealybug Wilt associated Virus* (PMWaV - 1 a 3) é o agente etiológico de uma doença que causa perdas significativas à cultura do abacaxizeiro, denominada murcha do abacaxi. Esta doença é transmitida pela Cochonilha *Dysmicoccus brevipes* sempre ocorre quando o inseto infectivo se alimenta da seiva da planta. Este vetor pode transmitir as três espécies do PMWaV-1, 2 e 3, que pertencem ao gênero *Ampelovirus*. A planta infectada apresenta perda de turgescência dos tecidos foliares e partes suculentas, fazendo-a definhando progressivamente, podendo levá-lo à morte. Nos casos em que os sintomas não são aparentes, torna-se praticamente impossível a distinção entre uma planta saudável e uma infectada, dificultando a seleção de mudas para o plantio, levando a disseminação do vírus, visto que o abacaxizeiro é propagado vegetativamente. Atualmente o diagnóstico da doença é realizado por meio de técnicas moleculares e sorológicas. A técnica molecular utilizada para a detecção do PMWaV é a RT-PCR (Reação em cadeia polimerase com transcrição reversa), mais sensível, porém de alto custo. A técnica sorológica empregada é denominada “*tissue blotting immunoassay*” (TBIA), cuja execução é mais complicada e demanda maior tempo para sua realização. Uma alternativa é o uso da técnica de ELISA, que é sensível, específica, de baixo custo e possibilita o teste de um grande número de amostras em curto espaço de tempo. Entretanto há necessidade de produzir anticorpos. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi clonar o gene da capa protéica (CP) do PMWaV-1 para futuramente ser expressa, purificada utilizada para a produção de anticorpo. O genes da capa proteica (CP) do PMWaV-1 foi amplificado via RT-PCR, a partir do RNA total extraído de plantas infectadas, utilizando oligonucleotídeos específicos, contendo sítios de restrição em suas extremidades. O fragmento amplificado foi clonado utilizando o Kit pGEM-T easy (Promega). Atualmente o gene CP está sendo transferido para o vetor de expressão pRSET-A.

Palavras-chave: Abacaxizeiro; Vírus; Diagnóstico; ELISA
