

062

**CLONAGEM E EXPRESSÃO DO GENE APXIV DE ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE EM E. COLI.** *Shana de Souto Weber, Mateus Matiuuzzi da Costa, Sergio Ceroni da Silva (orient.)* (Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária,

UFRGS).

A suinocultura é uma atividade de grande importância para a região sul do Brasil, sendo esta responsável por 50% da produção nacional de suínos. Com o intuito de obter uma maior produtividade, os suínos passaram a ser criados de forma intensiva. Entretanto, a alta densidade populacional em ambientes fechados, propicia uma maior exposição a agentes infecciosos. Entre as enfermidades bacterianas de maior importância à criação, está a pleuropneumonia suína. Esta doença ocorre no aparelho respiratório dos suínos e tem como agente etiológico a bactéria *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App). Dentre os fatores de virulência podemos citar as toxinas da família RTX (Apx), das quais apenas a toxina ApxIVA, assim como o gene *apxIVA*, foi encontrada especificamente em *A. pleuropneumoniae*. Este trabalho tem como objetivo realizar a clonagem do gene *apxIVA*, expressar a toxina ApxIVA para posterior purificação, visando a criação de subsídios para o desenvolvimento de testes sorológicos rápidos, como o ELISA, para o diagnóstico da pleuropneumonia suína. Para a execução do trabalho foram obtidos, previamente, os fragmentos do gene *apxIVA* por PCR. Os fragmentos foram purificados e após clonados no vetor pUC18 SmaI. Os transformantes contendo o fragmento correto foram digeridos com as enzimas de restrição EcoRI e NdeI sendo, posteriormente, clonados no vetor de expressão pET-15b e transformados por eletroporação em *Escherichia coli*, onde será induzida a produção das proteínas recombinantes. Por fim, será feita purificação por cromatografia de afinidade em Níquel, a qual é facilitada devido ao pET-15b conter um sítio de múltipla clonagem e uma cauda de hexâmero de histidina na porção N-terminal. (PROPESQ/UFRGS).