

ANÁLISE IMUNOGÊNICA DE ANTÍGENO DO VÍRUS MAEDI-VISNA PELO WESTERN BLOT 2-D

Araújo, Juscilânia Furtado^{1*}; Azevedo, Dalva Alana Aragão de²; Sousa, Ana Lúcia Madeira de³; Santiago, Lauana Borges⁴; Andrioli, Alice⁴; Pinheiro, Raymundo Rizaldo⁵.

¹ Aluna do curso de Biologia Bacharelado da Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA, Bolsista PIBIC/CNPq - Embrapa Caprinos e Ovinos;

² Mestranda em Zootecnia, Programa de Pós-Graduação (UVA/Embrapa Caprinos e Ovinos), Bolsista CAPES;

³ Aluna do curso de Biologia Bacharelado da UVA, Bolsista FUNCAP;

⁴ Pesquisadoras da Embrapa Caprinos e Ovinos;

⁵ Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, Orientador, Bolsista de Produtividade da FUNCAP.

* Apresentador do pôster, e-mail: laninha.araujo@hotmail.com

A enfermidade Maedi-Visna (MV) é causada por um vírus pertencente à família *Retroviridae* do gênero dos lentívirus, que ocasiona doenças progressivas crônicas tais como: pneumonia intersticial, mastite e encefalite, associadas ou não. Para detecção desta enfermidade os testes laboratoriais de imunodiagnóstico indiretos são os mais utilizados. Dentre as técnicas utilizadas estão a Imunodifusão em gel de agarose, Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) e Western Blot (WB). Objetivou-se detectar as proteínas imunogênicas de antígeno produzido a partir de cepa padrão K1514 do Vírus Maedi-Visna (MVV). Para produção do antígeno realizou-se inoculação do MVV em cultura de células de membrana sinovial caprina. O sobrenadante obtido foi submetido à precipitação com PEG 8000 e depois à ultracentrifugação em colchão de sacarose. *Strips* de 13cm com faixa de pH de 3-10, foram reidratadas com antígeno por 16 horas e então submetidas a focalização isoelétrica, por cerca de seis horas. Após a focalização, as *strips* foram armazenadas em freezer a -80°C. Posteriormente, foram submetidas à eletroforese (SDS-PAGE) em gel de poliacrilamida a

12,5%. O gel foi então transferido por meio passivo para membrana de nitrocelulose (MN). A MN foi bloqueada com PBS-Tween 0,3% por 60 minutos. O soro positivo do kit americano (*CAE/OPP Antibody Test Kit, Veterinary Diagnostic Technology, Inc, USA*) foi incubado por 30 minutos à 37°C. Lavou-se por 3 vezes durante 5 minutos, cada. Colocou-se o conjugado (coelho anti cabra –peroxidase) diluído 1:12000, por 60 minutos. Lavou-se com PBS-Tween 0,05% por 3 vezes e com PBS puro por 2 vezes, durante 5 minutos, cada. Revelou-se com a mistura de DAB (0,1% em PBS) a uma solução de 4-cloronaphtol (0,5%), metanol (20%) em PBS e mais a adição de H₂O₂ (0,04%), por 10 a 15 minutos. A reação foi suspensa com água destilada. Os *spots* protéicos que apresentaram a melhor resposta imunológica no teste foram aqueles com massa molecular próximos a 30KDa, os quais referem-se a proteína imunogênica p28. Os três *spots* com resposta imunológica estavam em uma mesma faixa de massa molecular, contudo apresentaram valores de pH distintos, de caráter neutro a básico, o que permite inferir que sejam proteínas com sequências aminoacídicas diferentes. Estas proteínas apresentam massa molecular igual ou próximo ao da proteína p28 e exibiram epitopos que se ligaram a anticorpos diferentes. Conclui-se que existem pelo menos três proteínas do capsídeo do MVV, com massa molecular próximo a 28KDa, apresentando portanto, reação imunogênica.

Palavras- chave: Imunodiagnóstico, lentivírus, ovinos, proteínas.

Suporte financeiro: Embrapa Caprinos e Ovinos, CNPq, FUNCAP, Banco do Nordeste.