

PRODUÇÃO DE ANTÍGENO SINTÉTICO RECOMBINANTE DO *TREPONEMA PALLIDUM* PARA USO EM IMUNODIAGNÓSTICO

ANDREOTTI, Pamela Marissa Deodato¹ (andreottipamela@gmail.com); **ORTOLANI, Lais**² **Gonçalves** (ortolani.lais@gmail.com); **BARBOSA, Marcelo dos Santos**³ (marcelo_medvet@hotmail.com); **MARCHIORO, Silvana Beutinger**⁴ (silvanamarchioro@ufgd.edu.br); **SIMIONATTO, Simone**⁴ (simonesimionatto@ufgd.edu.br)

¹ Discente do curso de Biotecnologia da UFGD – Dourados

² Laboratório de Pesquisa em Ciências da Saúde da UFGD – Dourados

³ Discente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde UFGD – Dourados

⁴ Docente do curso de Biotecnologia da UFGD – Dourados

A sífilis é uma infecção causada pela bactéria *Treponema pallidum*, que pode ser transmitida através de relações sexuais desprotegidas e verticalmente da mãe para o feto. Esta doença apresenta grande importância epidemiológica, por apresentar relação com altas taxas de morbimortalidade, permanecendo como causa importante de eventos adversos da gravidez, incluindo um número significativo de mortes e incapacidades perinatais. Embora seja de fácil tratamento, o número de novos casos de sífilis no Brasil aumenta de forma assustadora. A infecção pelo *T. pallidum* é diagnosticada com um teste não-treponêmico e a confirmação é realizada através de testes sorológicos treponêmicos, associados às manifestações clínicas da doença, uma vez que técnicas de diagnóstico disponíveis apresentam limitação quanto a sensibilidade e especificidade. Entretanto, o desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico recombinantes está relacionado a seleção de alvos apropriados e constitui um amplo e promissor campo para atuação em pesquisa e desenvolvimento de novos produtos para saúde humana. O presente trabalho teve como objetivo a exploração dos dados genômicos e proteômicos do *T. pallidum* para o desenvolvimento de testes diagnósticos mais eficientes, visando melhorar o controle da sífilis. Para isso foi construído um gene sintético *tp0684* e clonado em vetores de expressão em procarioto. A presença do gene *tp0684* foi confirmada por digestão com enzima de restrição e sequenciamento de DNA. Um clone recombinante foi transformado em uma cepa de expressão *E. coli* BL21-Star (DE3) e a expressão da proteína recombinante foi induzida utilizando 1 mM de isopropil- β -D-1-tiogalactopiranosido (IPTG). A proteína recombinante (TP0684r) foi purificada por cromatografia de afinidade ao níquel e as frações resultantes foram analisadas em um gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)12%. A proteína recombinante foi caracterizada por *Western blotting* (WB), utilizando um anticorpo monoclonal anti-histidina (Sigma). A pureza e concentração da TP0684r foi determinada através do kit BCA protein assay kit (Pierce) e o rendimento foi de 10,4 mg/ L. Os procedimentos de clonagem, expressão e purificação da TP0684r foram realizados com sucesso. Atualmente esta proteína está sendo avaliada quanto ao seu potencial para desenvolvimento de testes de diagnósticos sorológicos para sífilis mais sensíveis e específicos.

Palavra-Chave: Proteína recombinante, teste de diagnóstico, sífilis.

Agradecimentos: A Fundação de apoio ao desenvolvimento do ensino, ciência e tecnologia do estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) e ao Ministério da Educação (Pronem- 092/2015) pelo apoio financeiro.