Simpósio de Integração Acadêmica

"Das Montanhas de Minas ao Oceano: Os Caminhos da Ciência para um Futuro Sustentável"

SIA UFV 2025

Universidade Federal de Viçosa

Expressão heteróloga de proteínas do bacteriófago vB_EcoM-UFV13 e avaliação de suas atividades líticas para o controle de patógenos bacterianos relacionados a mastite bovina em vacas leiteiras

Maria Eduarda da Silva Matos[1], Sérgio Oliveira de Paula[2], Laís Pereira Botelho[3], Carlos Henrique Martins da Silva[3], Adriele Jéssica do Carmo Santos[3]

ODS 12

Categoria: Pesquisa

Introdução

A mastite bovina é uma enfermidade comum em vacas leiteiras que provoca a inflamação das glândulas mamárias. A doença pode ser causada por uma grande diversidade de microrganismos, e dentre as bactérias mais comumente associadas à mastite, destacam-se as do gênero Staphylococcus spp., frequentemente resistentes a antibióticos beta-lactâmicos, classe de antimicrobianos amplamente utilizada no tratamento dessa doença. No Brasil, a mastite é altamente prevalente e afeta a produção leiteira, comprometendo a qualidade do leite, tornando-o impróprio para comercialização e consumo.

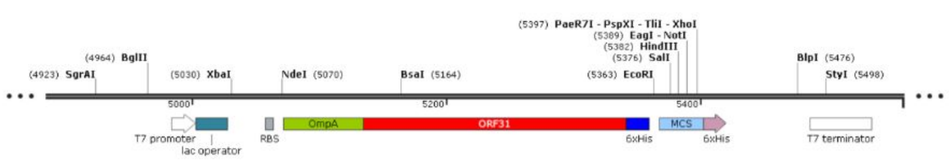
Diante do aumento de cepas resistentes a antimicrobianos, novas estratégias terapêuticas vêm sendo exploradas e dentre elas, destacam-se os bacteriófagos e suas proteínas como alternativa eficaz e promissora.

Objetivos

Expressar e avaliar a efetividade de três proteínas recombinantes pertencentes ao grupo das VAPGHs provenientes do bacteriófago UFV13 no controle de bactérias causadoras da mastite bovina, como uma alternativa ao uso de antimicrobianos para o tratamento dos animais afetados pela doença.

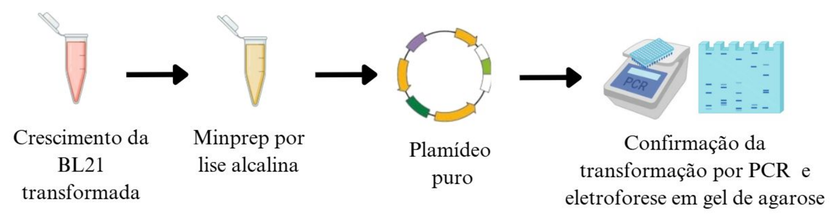
Materiais e Métodos

Construção do vetor de expressão

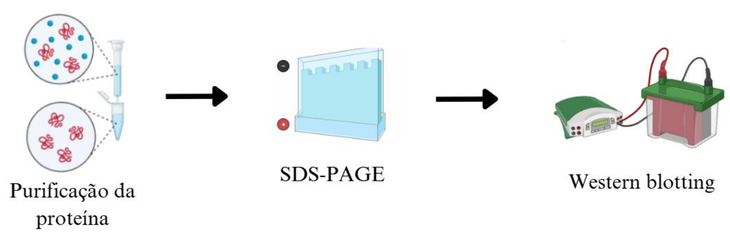


Obtenção dos plasmídeos e transformação em *E.coli* Top10 e BL21

Extração plasmidial e confirmação da transformação



Testes de expressão



Apoio Financeiro

CNPq

Resultados

A partir dos testes de expressão realizados constatou-se a impossibilidade de expressar as três proteínas de interesse da forma esperada. Com a ORF 31 não foi possível obter nenhuma banda nos testes de confirmação propostos.

Figura 1: SDS-PAGE ORF 31. Ordem no gel: Marcador - Controle (+) - Fração solúvel - Fração insolúvel

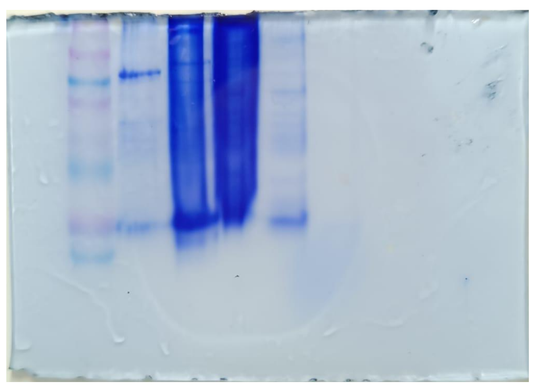
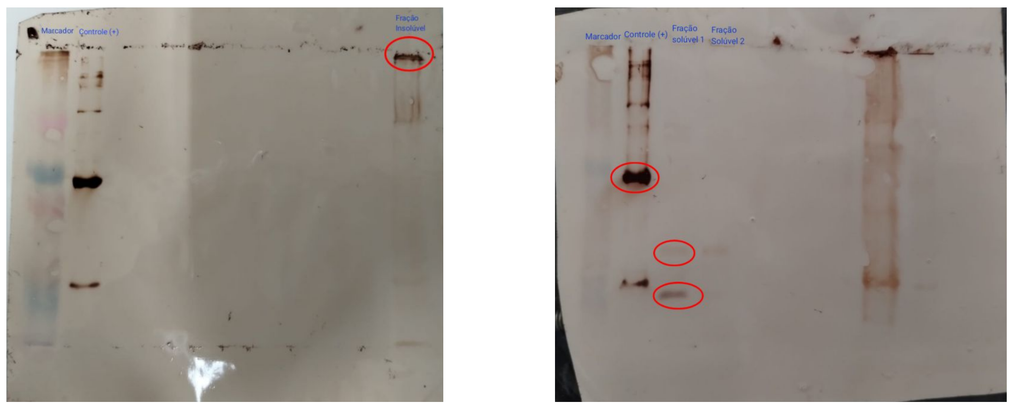


Figura 2: *Western Blotting* feito utilizando células BL21 contendo ORF 157 e ORF 246.



Já com a ORF 157 sua presença foi confirmada na fração insolúvel, porém por motivos desconhecidos o peptídeo não saiu da canaleta do gel. Por fim, a ORF 246 apresentou confirmação em um peso molecular muito abaixo do esperado para a proteína.

Conclusões

Não houve êxito na expressão e purificação em sua conformação nativa de nenhuma das proteínas escolhidas. Entretanto, em relação à expressão da ORF 246, há a possibilidade de tentativas de sua expressão em projetos futuros, sendo necessário a realização de um sequenciamento das bandas obtidas para confirmar a hipótese de degradação induzida por OmpA. Caso isso se confirme, será necessário obter uma melhor forma de expressão dessa proteína sem a utilização de uma sinalização para o envio extracelular.

Bibliografia

DUARTE, Vinícius S.; DIAS, Roberto S.; KROPINSKI, Andrew M.; SOUSA, Flávia O.; XAVIER, André S.; FERRO, Camila G.; VIDIGAL, Pedro M. P.; SILVA, Cynthia C.; PAULA, Sérgio O. Complete genome sequence of vB_EcoM-UFV13, a new bacteriophage able to disrupt Trueperella pyogenes biofilm. **Genome Announcements**, v. 4, n. 6, p. 4–5, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1128/genomea.01292-16.