

# Proteína recombinante criada a partir da previsão de epítópos pode proteger peixe paulistinha (*zebrafish*) contra mortalidade por *Aeromonas hydrophila* e *Pseudomonas fluorescens*

Laura Alves Zuanon, Tiago A. de Oliveira Mendes, Jojo Rodrigues, Camila Aparecida Martins, Karina V. Boechat Martins, Jener A. Sampaio Zuanon

## ODS 14: Vida na água

## Categoria: Pesquisa

# Introdução

- A aquicultura é um sistema de produção de alimentos baseado na cultura de organismos aquáticos, como peixes, crustáceos e algas.
  - Sua expansão acarreta alterações em seus criadouros, tornando-os mais suscetíveis ao desenvolvimento de doenças, resultando em perdas financeiras e riscos à saúde humana.
  - Os agentes infecciosos podem ser vírus, fungos, parasitas ou bactérias, como as espécies *Aeromonas hydrophila* e *Pseudomonas fluorescens*.
  - Em grandes sistemas de produção, pode-se utilizar vacinas orais como profilaxia, cujas características permitem redução do manejo dos animais e aplicações simples e rápidas.



Figura 1: Sistema de produção de peixes e crustáceos. Fonte: *Aquaintech Inc.*

# Objetivos

Desenvolver e produzir antígeno recombinante a partir de proteínas de patógenos conhecidos e avaliar seu potencial de imunização em peixes paulistinha (*zebrafish*).

# Material e Métodos

- Sequências proteicas**

**Gene quimérico**

**Transformação celular**

**Expressão da proteína**

**Purificação proteica**

**Imunização injetável**

**Desafio com patógeno**

**Análise de resultados**

**A**

**B**

Heat shock (e.g., 42°C, 30 sec)

Detailed description: The diagram illustrates a workflow for protein sequencing. It starts with a zebrafish (A) and a gene construct (B). The gene construct is used to create a chimeric gene (Gene quimérico). This gene is then used for transformation (Transformação celular) to produce a transgenic zebrafish. The protein from this transgenic zebrafish is then purified (Purificação proteica). The purified protein is used for immunization (Imunização injetável) and challenge (Desafio com patógeno). Finally, the results are analyzed (Análise de resultados). A separate diagram (B) shows a cell being transformed by heat shock (42°C, 30 sec) to allow for the uptake of the foreign DNA.

# Apoio Financeiro

# Resultados

# **Construção bem-sucedida do gene da proteína recombinante e confirmação do seu rendimento**

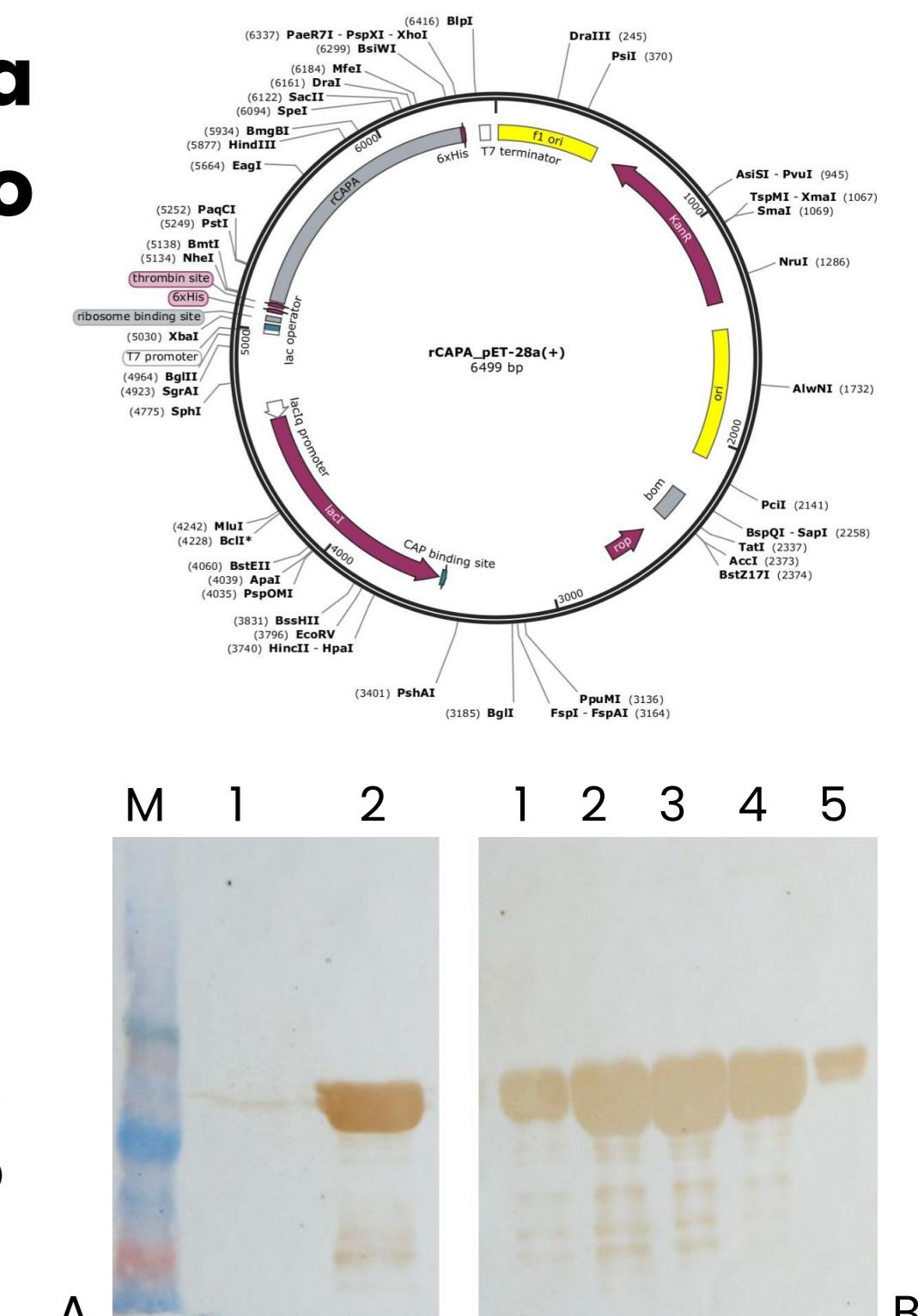
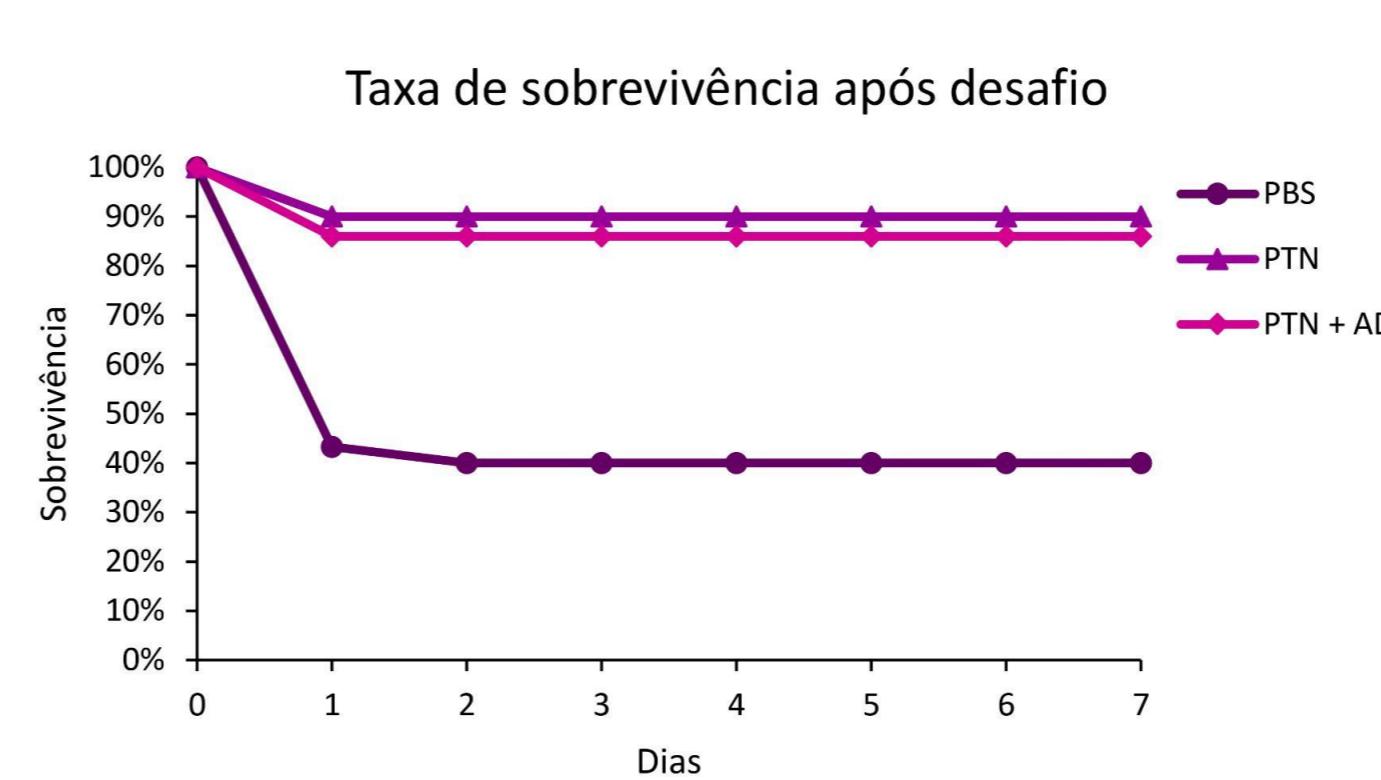


Figura 3: Vetor de expressão pET28a contendo o gene construído para a proteína quimérica.

Figura 4: Confirmação da expressão e da purificação da proteína quimérica por Western Blotting. (A) Maior concentração da proteína na fração insolúvel (2) em relação à fração solúvel (1); (B) Frações (1-5) obtidas após purificação da fração insolúvel com coluna de níquel (HisTrap). M representa o marcador molecular.

# Proteção contra mortalidade por *A. hydrophila* conferida pela proteína quimérica



**e** Figura 5: Taxa de sobrevivência dos peixes após desafio com 10  $\mu$ L de *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966. Os grupos experimentais são: peixes injetados com solução salina (PBS); peixes injetados com proteína recombinante (PTN); e peixes injetados com proteína recombinante associada ao adjuvante hidróxido de alumínio (PTN + ADJ). Foi realizada análise estatística através do GraphPad Prism 7.0, a taxa de sobrevivência foi considerada significativa com valor de  $p < 0,05$ ; foi aplicado teste LogRank cujo valor de  $p$  foi \*\*\*\* ( $< 0,0001$ ).

# Conclusões

A proteína recombinante pode ser considerada boa candidata à produção de vacina, devido ao resultado positivo obtido no teste de desafio com *A. hydrophila* e ao seu baixo custo de produção. É ainda necessário realizar o desafio com a bactéria *P. fluorescens* para avaliar a possível proteção polivalente do antígeno. Há de ser produzida e analisada a formulação oral contendo a proteína quimérica.

# Bibliografia

- PESSOA et al. *Aeromonas* and Human Health Disorders: clinical approaches. **Frontiers In Microbiology**. 2022.

ADAMS, A.. Progress, challenges and opportunities in fish vaccine development. **Fish & Shellfish Immunology**. 2019.

RADHAKRISHNAN, A.; VASEEHARAN, B.; RAMASAMY, P.; JEYACHANDRAN, S.. Oral vaccination for sustainable disease prevention in aquaculture – an encapsulation approach. **Aquaculture International**. 2022.