

Proteína recombinante criada a partir da previsão de epítomos 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

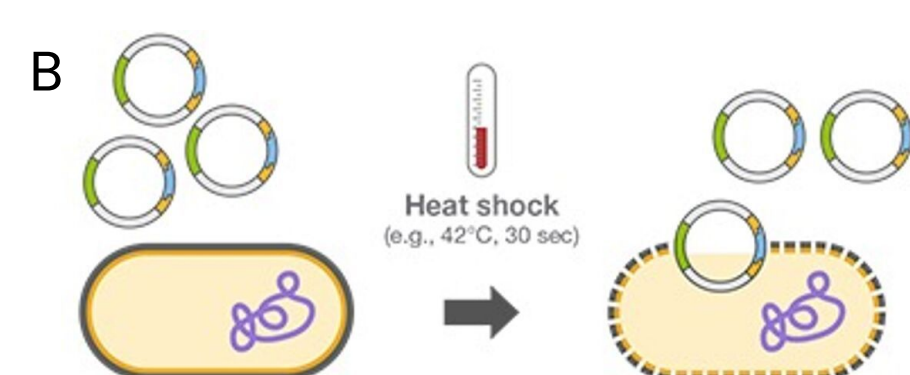


Figura 2: (A) Peixe paulistinha (zebrafish). Fonte: Viridea Garden Center. (B) Esquema de transformação celular por choque térmico.



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.

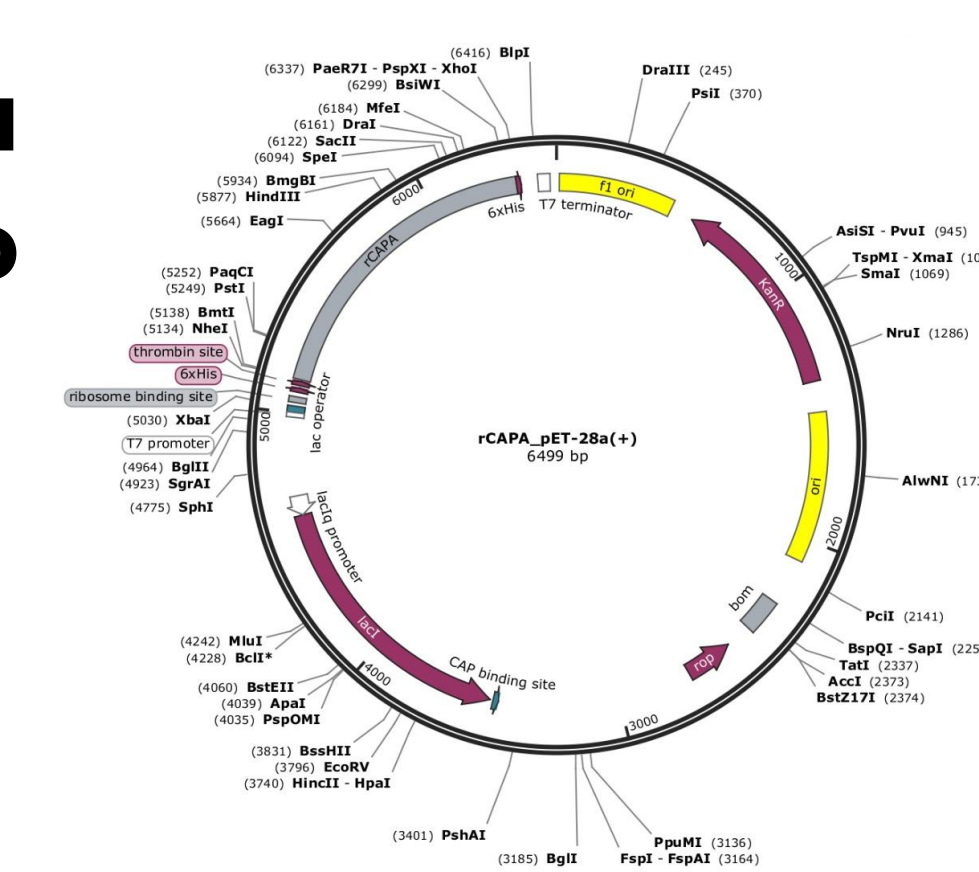
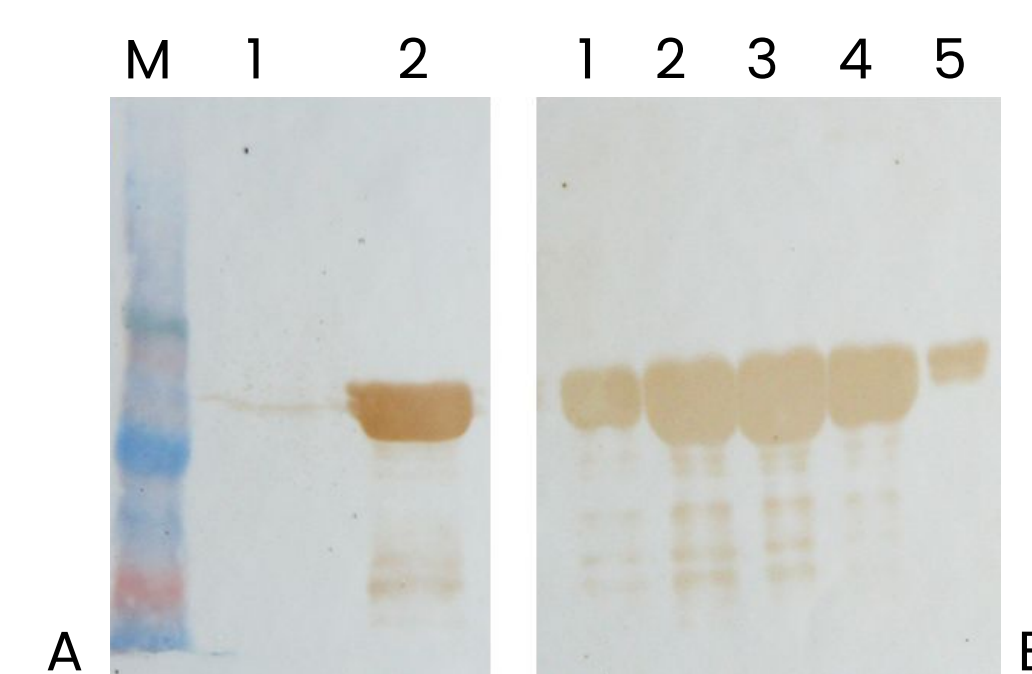


Figura 4: Confirmação da expressão e da purificação da proteína quimérica por Western Blotting. (A) Maior concentração da proteína na fração insolúvel (2) em relação à fração solúvel (1); (B) Frações (1-5) obtidas após purificação da fração insolúvel com coluna de níquel (HisTrap). M representa o marcador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



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

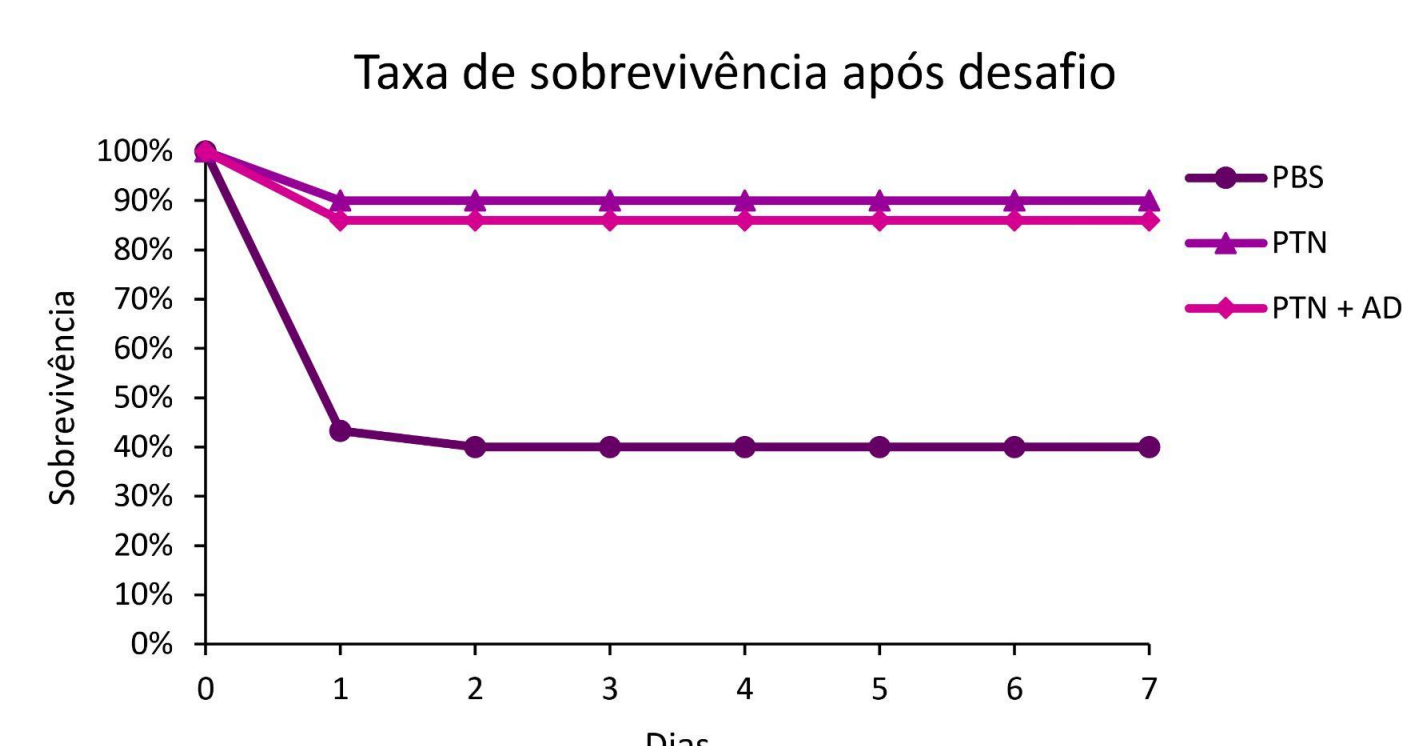


Figura 5: Taxa de sobrevivência dos peixes após desafio com 10 µL de *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966. Os grupos experimentais são: peixes injetados com solução salina (PBS); peixes injetados com proteína recombinante (PTN); e peixes injetados com proteína recombinante associada ao adjuvante hidróxido 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.