PRODUÇÃO DA NUCLEOPROTEÍNA RECOMBINANTE DO VÍRUS DA INFLUENZA AVIÁRIA PARA APLICAÇÃO NO IMUNODIAGNÓSTICO

PRODUCTION OF RECOMBINANT NUCLEOPROTEIN AVIAN INFLUENZA VIRUS FOR USE IN IMMUNODIAGNOSTIC

M. M. BORZI[1]*, M. F. S. MONTASSIER[1], K. R. SILVA[1], R. M. SANTOS[1], F. S. FERNANDO[1], V. C. MARIGUELA[1], P. D. LOPES[1], H. J. MONTASSIER[1]

RESUMO

A nucleoproteína (NP) do Vírus da Influenza Aviária (VIA) é um importante alvo antigênico no imunodiagnóstico desta doença, devido à sua baixa variabilidade entre as diferentes estirpes virais, resultando em uma elevada reatividade cruzada, e por ser também uma proteína altamente imunogênica para hospedeiros vertebrados. O objetivo deste estudo foi clonar parcialmente o gene codificador da NP do VIA e expressar em *Escherichia coli* como uma proteína recombinante fusionada ao polipeptídeo SUMO e uma etiqueta de poli-histidina, a fim de utilizá-la no desenvolvimento de um ensaio de ELISA indireto para a detecção de anticorpos específicos contra o VIA. O subtipo H4N6 do VIA tipo A foi propagado em ovos embrionados livres de patógenos e o RNA viral foi extraído. Após a Reação de Transcrição Reversa seguida pela Reação em Cadeia pela Polimerase (RT-PCR), foi obtido o material gênico a ser inserido no vetor pET SUMO (Invitrogen®) para posterior transformação em células de *E. coli* competentes. Foi realizada uma cinética da indução da expressão da NP recombinante (NPr), seguida da caracterização imunoquímica através das técnicas de PAGE-SDS e de Western Blotting, como também análise *in silico* dos principais sítios de antigenicidade. A NPr foi expressa na fração solúvel e facilmente purificada, sendo utilizada como uma preparação antigênica no ELISA indireto para detecção de anticorpos contra o VIA presentes em 121 amostras de soro de galinha. A análise comparativa do teste desenvolvido em relação ao teste de ELISA comercial apresentou valores de 95%, 97% e 96,7% de sensibilidade, especificidade e acurácia, respectivamente e concordância de 0,88. Os resultados permitem concluir que a NPr do VIA produzida nesse estudo possui características favoráveis para ser aplicada como antígeno no ELISA indireto, o qual se constitui como um método sensível e específico para o imunodiagnóstico da Influenza Aviária em galinhas.

PALAVRAS-CHAVE: CLONAGEM E EXPRESSÃO. PROTEÍNA RECOMBINANTE. ELISA INDIRETO. SORODIAGNÓSTICO.

AGRADECIMENTOS: CNPq.

ÁREA TEMÁTICA: Doenças infecciosas.

[1] Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Câmpus de Jaboticabal
* mmborzi@gmail.com