

B1 Clonagem, expressão e purificação de proteína imunogênica de *Acinetobacter baumannii*

Anna Erika Vieira de Araujo¹, Luis Vidal Conde¹, Lucas Almeida Machado¹, José Procópio Moreno Senna¹

¹ Vice-Diretoria de Desenvolvimento Tecnológico, Programa de Biofármacos Laboratório de Tecnologia Recombinante Bio-Manguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil

Introdução: *Acinetobacter baumannii* é um importante patógeno oportunista no mundo inteiro, com alta incidência em unidades de tratamento intensivo, acometendo principalmente pacientes imunossuprimidos. Recentemente foi relatado que, no Brasil, de 15 a 20% dos isolados desta bactéria apresenta resistência aos antibióticos β -lactâmicos, incluindo os carbapenems, o que dificulta o tratamento e abre espaço para a busca de terapias alternativas, como as imunoterapias. Em trabalhos anteriores, foi identificada uma proteína com potencial imunogênico denominada OmpA.

Objetivos: Clonagem, expressão e purificação da proteína OmpA de *Acinetobacter baumannii*.

Metodologia: Para amplificação do gene bacteriano por PCR, foram utilizados *primers* sintetizados pela empresa IDT[®], a partir da sequência tirada do banco de dados do NCBI e montada com o auxílio do programa DNA Vector. O gene da proteína OmpA foi amplificado e clonado no vetor pET28a, com as enzimas de restrição *NheI* e *HindIII*, em *Escherichia coli* TOP10. A expressão do gene foi feita em *Escherichia coli* BL-21 (DE3) e a purificação foi realizada a partir da solubilização dos corpos de inclusão com uréia, submetendo-se em seguida à cromatografia por afinidade em coluna de níquel. O *refolding* da proteína foi realizado através de diálise em PBS.

Resultados: Da amplificação e clonagem foi possível obter um gene de 1005bp, correspondente à sequência da proteína OmpA. Na indução de expressão proteica com IPTG, verificou-se a superexpressão do gene de interesse, na forma de proteína com peso molecular de aproximadamente 45 kDa, sendo que a maior parte desta foi expressa na forma insolúvel de corpos de inclusão. Após a purificação, diálise e *refolding*, foi possível obter uma fração homogênea da proteína de interesse na faixa de peso correspondente a 45 kDa.

Conclusão: Este estudo mostrou que é possível obter a proteína imunogênica OmpA de *Acinetobacter baumannii* em sistema de expressão de *Escherichia coli*, e purificá-la através de cromatografia

por afinidade, obtendo uma fração proteica homogênea com banda majoritária na faixa de 45 kDa. Esses resultados são essenciais para avaliar o potencial da OmpA como alvo imunoterápico, podendo ser futuramente utilizada em vacinas ou anticorpos monoclonais.

Palavras-Chave: Acinobacter baumannii, OmpA, Proteína, Imunoterapias