

## OLIPEPTÍDEO RECOMBINANTE DE *Mycobacterium leprae* COMO FERRAMENTA POTENCIAL PARA O DIAGNÓSTICO DE HANSENÍASE

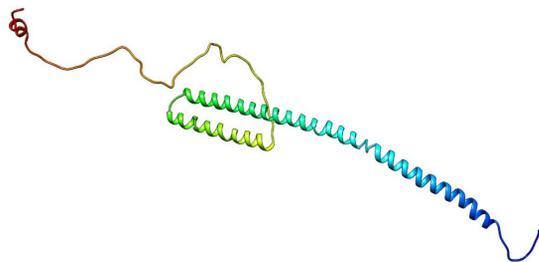
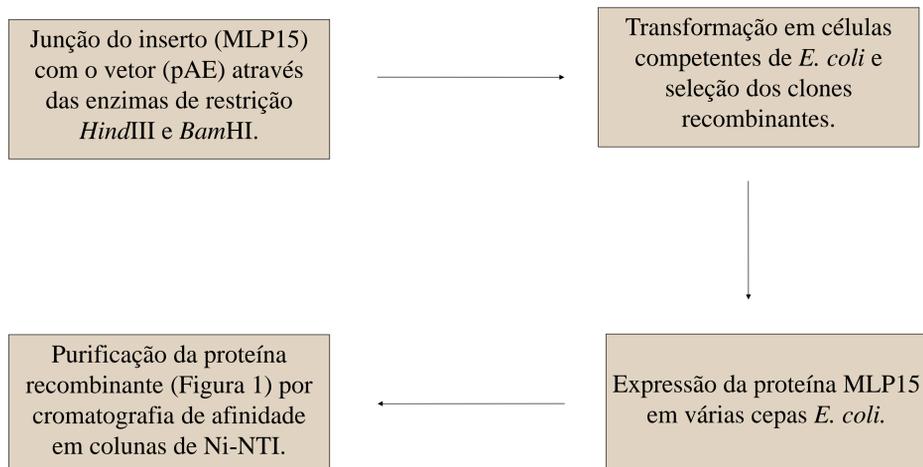
PEIXOTO, Andressa Felizari Escobar<sup>1</sup> (andressa.fe.peixoto@gmail.com); BARBOSA, Marcelo Dos Santos<sup>3</sup> (marcelo\_medvet@hotmail.com); SOUZA, Iara Beatriz Andrade De<sup>3</sup> (iarabeatriz.and@gmail.com); SILVA, Nilson Henrique Da<sup>2</sup> (nhenrique1998@gmail.com); MARCHIORO, Silvana Beutinger<sup>4</sup> (SilvanaMarchioro@ufgd.edu.br)

<sup>1</sup>Bolsista PIBIC do curso de Biotecnologia da UFGD; <sup>2</sup>Discente do curso de Medicina da UFGD; <sup>3</sup>Discente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UFGD; <sup>4</sup>Docente do curso de Medicina da UFGD.

### INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A hanseníase é endêmica em várias partes do mundo, afetando milhões de pessoas. A doença é transmitida no contato direto com pessoas infectadas pela inalação do bacilo *Mycobacterium leprae*, causa lesões na pele e alterações neurológicas, além de outros sintomas sistêmicos. O diagnóstico da hanseníase é baseado na baciloscopia e histopatologia e a confirmação é feita através dos sinais e sintomas apresentados pelos pacientes. Não existe um método com sensibilidade e especificidade requeridos para detecção de todos os casos o que é essencial para um melhor controle e diminuição dos índices epidemiológicos da doença. O objetivo dessa pesquisa é expressar, purificar e quantificar duas quimeras recombinantes de *M. leprae* utilizando para isso o sistema de expressão heteróloga em *E. coli* em quantidades suficientes para realização de testes imunológicos para o desenvolvimento de testes diagnósticos sorológicos para hanseníase.

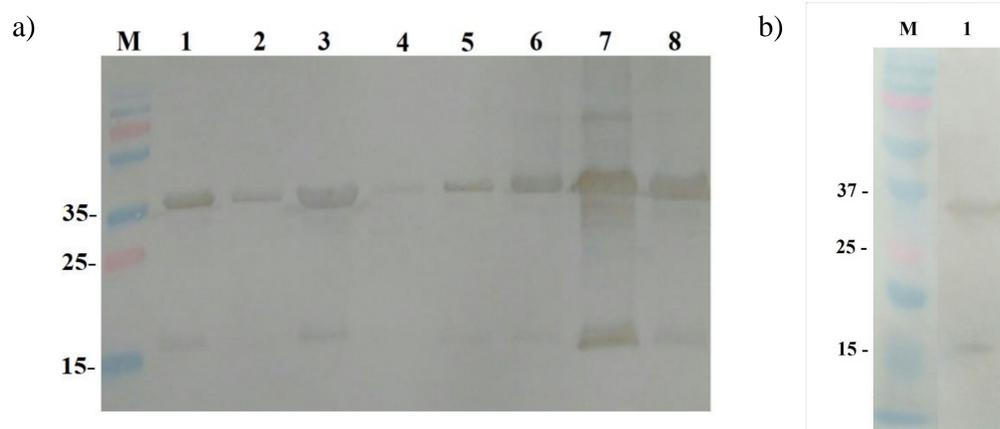
### METODOLOGIA



**Figura 1.** Representação da predição, *in silico*, da estrutura terciária da proteína MLP15 em RaptorX, imagem editada em UCSF-Chimera Software Protein.

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

A clonagem do polipeptídeo no vetor de expressão pAE foi bem sucedida e confirmada por digestão com enzimas de restrição, PCR e sequenciamento. A expressão do MLP15 em várias cepas foi confirmada por *Western Blot*. (Figura 2 a) A proteína foi purificada com sucesso em um rendimento de 2,2 mg/L, confirmado por *Western Blot* de anti-histidina (Figura 2 b).



**Figura 2.** (a) Análise de *Western Blot* da expressão em pequena escala, mostrando a presença de bandas de aproximadamente 17 e 36 kDa. M: Marcador; 1: *E. coli* Star; 2: *E. coli* C41; 3: *E. coli* C43; 4: *E. coli* Roseta; 5: *E. coli* pLysS; 6: *E. coli* pLysE; 7: *E. coli* RP and 8: *E. coli* Salt Induction. (b) *Western Blot* do polipeptídeo reconhecido pelo anticorpo monoclonal anti-histidina apresentando reação nas bandas de aproximadamente 17 e 35 kDa. M: Marcador; 1: His-MLP15 purificado.

### CONCLUSÕES

A clonagem e expressão de uma das quimeras recombinantes, o MLP15, em sistema de expressão heterólogo em *E. coli* BL21(DE3) foi realizada com êxito. Através de métodos como *Western Blot* foi possível quantificar e concluir que as quantidades expressas de proteína são significativas e podem ser utilizada em testes sorológicos. Os resultados das análises *in silico* indicaram que o polipeptídeo tem potencial para reconhecimento sorológico, vários epítomos foram capazes de ser reconhecidos por moléculas de MHC-I e MHC-II. No futuro o próximo passo é realizar testes sorológicos *in vitro* para a detecção de *M. leprae*.

**Agradecimentos:** Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de iniciação científica ao primeiro autor; Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT 092/2015).

Realização:

**UFGD**  
Universidade Federal  
da Grande Dourados

**UEMS**  
Universidade Estadual  
de Mato Grosso do Sul

Parceiros:

**CAPES**

**CNPq**  
Conselho Nacional de Desenvolvimento  
Científico e Tecnológico

