

TÍTULO: PURIFICAÇÃO DE ANTÍGENOS DO LENTIVÍRUS CAPRINO POR COLUNA DE AFINIDADE.

AUTOR(ES) : PINHEIRO, R.R.; OLORTEGUI, C.C.; GOUVEIA, A.M.G.; ARAÚJO, S.C.; BOHORQUES, K.

INST. E END. DO 1<sup>o</sup> AUTOR: **Empraba Caprinos Univ. Est. Vale do Acaraú**

## RESUMO

No processo de purificação das proteínas dos lentivírus para produção de **antígenos (Ags)** ocorrem perdas principalmente das glicoproteínas **por** serem relativamente instáveis. Optou-se **pela** utilização **de** cromatografia em coluna de afinidade na purificação de proteínas do lentivírus caprino (LVC). No preparo da coluna de afinidade utilizou-se soro de caprinos positivo ao teste de microimunodifusão em gel de ágar (MIDGA) e *pool* de lotes de soro reagente integrante do kit comercial. A IgG foi obtida por precipitação em sulfato de amônio. A coluna foi preparada com proteína A imobilizada em sefarose CL-4B. Foi purificado o antígeno lote 1 (AgL1) obtido por concentração do sobrenadante de subcultivos de células de membrana sinovial caprina infectadas com LVC. O antígeno comercial (Agkit), AgL1 e o antígeno purificado (AgL1CA) foram submetidos a eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), immunoblotting e ELISA indireto. Na eletroforese verificou-se no AgL1CA quatro proteínas de peso molecular (PM) aproximado: 80kDa, 70kDa, 55kDa e 27kDa. No immunoblotting verificou-se que todos os Ags apresentaram uma banda de aproximadamente 27 kDa, sendo que, no AgL1CA ela foi mais intensa. No AgL1CA e AgL1 constatou-se outra banda de PM aproximado de 48 kDa, entretanto sendo bem mais forte no AgL1CA. No AgL1 observou-se, também, uma banda com 70 kDa. Verificou-se, também, a presença da glicoproteína com PM variando de 140 a 145 kDa em todos os antígenos. Nos AgL1 e AgL1CA observou-se, ainda, uma banda de PM de 19kDa. Comparando as bandas observadas por SDS-PAGE com as do immunoblotting, pode-se verificar que nos AgKit e AgL1 somente a proteína p28 apareceu nitidamente. No ELISA indireto utilizando o AgL1CA observou-se que a diluição **do soro** de 1:200 e 200ng de antígeno apresentou uma diferença, entre as densidades ópticas do pool de soros positivos e negativos, de aproximadamente **0,5** **que** viabiliza o desenvolvimento deste teste. Diante dos resultados verificou-se **que** o uso da cromatografia de afinidade **é uma** alternativa viável **na** obtenção de antígenos altamente purificados.

**ÁREA QUE SE ENQUADRA O SEU RESUMO:**