

PRODUÇÃO E PURIFICAÇÃO DE ANTICORPOS POLICLONAIS IgY ANTI-P21 RECOMBINANTE DE *TRYPANOSOMA CRUZI*

PRODUCTION AND PURIFICATION OF POLYCLONAL IgY ANTIBODIES ANTI- P21 FROM TRYPANOSOMA CRUZI

R. P. RIBEIRO¹, E. A. QUADROS¹, M. TIRONE¹, M. A. SANTOS², T. L. TEIXEIRA², J. P. SANTOS¹,
C. V. SILVA², A. FERREIRA JUNIOR^{2*}

RESUMO

Os objetivos deste trabalho foram: (i) produzir anticorpos policlonais IgY contra a versão recombinante da proteína de invasão celular P21 (P21r) de *Trypanosoma cruzi*; (ii) purificar os anticorpos IgY totais da gema do ovo de galinhas imunizadas com P21r; (iii) avaliar a qualidade dos procedimentos de purificação. Para a produção dos anticorpos IgY, três galinhas da linhagem HySex (25 semanas de idade), foram imunizadas com 100µg de P21r /250 µl de PBS (pH 7,2) emulsionado em 250 µl de adjuvante completo (primeira imunização) e incompleto (segunda e terceira imunizações) de Freund. Realizaram-se três imunizações, intramusculares, com intervalo de 14 dias. O volume final (500 µl) foi inoculado em quatro locais do músculo peitoral. Os ovos foram colhidos diariamente, durante sete semanas. As gemas foram armazenadas a -20°C. Para a purificação, a fração solúvel em água (FSA) foi obtida da gema total, por meio de precipitação em água acidificada (pH 5,0-5,2), seguida de *salting-out* da FSA com sulfato de sódio (19% e 14%). A extração dos anticorpos IgY foi avaliada por meio de eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) 12% e pelo teste de dot-blot com anticorpos anti-IgY marcados com peroxidase. A água acidificada produziu um sobrenadante translúcido (FSA) e um precipitado denso de cor amarela (P1, precipitado 1). O *salting-out* da FSA resultou em um precipitado de cor branca (P2, precipitado 2). O SDS-PAGE demonstrou a progressiva remoção de contaminantes, a cada etapa da extração. No SDS-PAGE a fração P2 apresentou uma banda proteica de peso molecular estimado de 180 kDa. No dot-blot foi feita a detecção de anticorpos IgY na fração P2. Utilizando procedimentos de fácil execução é produzida uma fração enriquecida em anticorpos IgY com grande potencial de emprego nos estudos celulares envolvendo o papel da P21 na interação parasita-hospedeiro.

PALAVRAS-CHAVE: IMUNOGLOBULINAS. TRIPANOSSOMATÍDEOS. PROTEÔMICA.

AGRADECIMENTO: CNPq e Instituto de Estudos Avançados em Medicina Veterinária José Caetano Borges.

ÁREA TEMÁTICA: Doenças Parasitárias

¹Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos. Instituto de Estudos Avançados José Caetano Borges. Campus Aeroporto. * alvaro.junior@uniube.br

² Universidade Federal de Uberlândia. Laboratório de Tripanossomatídeos. Instituto de Ciências Biomédicas. Campus Umuarama.