



Acta Scientiae Veterinariae

ISSN: 1678-0345

ActaSciVet@ufrgs.br

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Brasil

MACHADO TERRA LOPES, BEATRIZ

Construção de vetor oriC de *Mycoplasma hyopneumoniae* - uma ferramenta para estudos genéticos
do agente da pneumonia enzoótica suína

Acta Scientiae Veterinariae, vol. 37, núm. 1, 2009, pp. 111-112

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=289021808024>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal

Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

Construção de vetor oriC de *Mycoplasma hyopneumoniae* – uma ferramenta para estudos genéticos do agente da pneumonia enzoótica suína*

BEATRIZ MACHADO TERRA LOPES

SÉRGIO CERONI DA SILVA (ORIENTADOR – UFRGS)

Banca: Arnaldo Zaha (PPGBCM-UFRGS), Itabajara da Silva Vaz Júnior (PPGCV-UFRGS), Luciane Maria Pereira Passaglia (PPGGBM-UFRGS)

Mycoplasma hyopneumoniae é o agente etiológico da pneumonia enzoótica, enfermidade distribuída mundialmente em rebanhos suínos nas fases de crescimento e terminação. A pneumonia enzoótica tem sido considerada uma das mais importantes causas de perdas econômicas na suinocultura mundial. Tendo em vista a disponibilidade dos genomas completos de três linhagens diferentes de *M. pneumoniae*, sendo duas patogênicas (linhagens 7448 e 232) e outra não patogênica (linhagem J) e a ausência de sistemas genéticos adequados para o estudo destes genomas, é necessidade emergente o desenvolvimento de ferramentas genéticas funcionais neste organismo. Atualmente, cinco espécies de micoplasmas possuem vetores replicativos disponíveis para transformação. No entanto nenhum deles possui a oriC de *M. hyopneumoniae*, e estudos sugerem que estes vetores são espécie-específicos e não seriam replicados em *M. hyopneumoniae*. Este trabalho teve como objetivos a construção de um vetor replicativo e o desenvolvimento de um sistema para transformação de *M. hyopneumoniae*. Os resultados alcançados constituem uma etapa prévia e imprescindível para o estudo de supostas regiões promotoras nesta espécie. O plasmídeo replicativo pOSTM construído neste trabalho foi obtido a partir do vetor pUC18, adicionando-se a origem de replicação de *M. hyopneumoniae* e o cassete de expressão do gene de resistência à tetraciclina (*tetM*), controlado pelo promotor do gene da espiralina de *Spiroplasma citri*. A transformação foi realizada através de eletroporação e as células transformantes foram selecionadas pelo fenótipo de resistência à tetraciclina. Os transformantes resistentes à tetraciclina foram confirmados através da amplificação por PCR de porção do vetor inserido nas células. Tal comprovação permite concluir que o *M. hyopneumoniae* é um organismo susceptível à transformação e que o determinante tetM heterólogo é funcional neste patógeno.

Descritores: *Mycoplasma hyopneumoniae*, eletrotransformação, vetor oriC, resistência à tetraciclina.

Construction of a *Mycoplasma hyopneumoniae* oriC vector – a tool for genetic studies on the suine enzootic pneumonia agent

BEATRIZ MACHADO TERRA LOPES

Sérgio Ceroni da Silva (Adviser - UFRGS)

Marcelo Meller Alievi (Co-adviser - UFRGS)

Committee: Arnaldo Zaha (PPGBCM-UFRGS), Itabajara da Silva Vaz Júnior (PPGCV-UFRGS), Luciane Maria Pereira Passaglia (PPGGBM-UFRGS)

Mycoplasma hyopneumoniae is the etiological agent of enzootic pneumonia of pigs. The disease has a worldwide distribution in growing and finishing pigs. The enzootic pneumonia has been considered one of the most important causes of economic losses in the worldwide swine breeding. The now available complete sequences of the genomes of two pathogenic (7448 and 232) and one non-pathogenic strain (J) of *M. hyopneumoniae* and the lack of suitable genetic systems to study these genomes points to the emergent need for the development of functional genetic tools for this organism. Currently, there are replicating vectors available for five species of mycoplasmas. However none of them posses oriC of *M. hyopneumoniae*, and studies suggest that these vectors are species-specific and they would not be functional in *M. hyopneumoniae*. The aim of the present study was to construct a replicating vector and the development of a system for transformation of *M. hyopneumoniae*. These constitute a previous and essential stage for the study of putative promoter regions in this species. To construct the replicating plasmid pOSTM the oriC of *M. hyopneumoniae* and the expression cassette containing the gene for tetracycline resistance (tetM), controlled by spiralin gene promoter of *Spiroplasma citri*, were introduced into the vector pUC18. The transformation was achieved by electroporation and transformants were selected for tetracycline resistance. Tetracycline resistance transformants were confirmed through PCR amplification of portion of the inserted vector. Such evidence allows the conclusion that *M. hyopneumoniae* is amenable to transformation and heterologous tetM determinant is functional in this pathogen.

Key words: *Mycoplasma hyopneumoniae*, electroporation, oriC vector, tetracycline resistance.