

Um novo sistema de clonagem baseado na lipoproteína OprI para obtenção de formulações imunogénicas derivadas da parede celular bacteriana

Resumo

A modulação de imunidade específica por conjugação de antígenos com ligandos de receptores de reconhecimento de padrão (PRR) constitui uma estratégia emergente para o desenvolvimento de vacinas subunitárias. Neste trabalho, desenvolve-se um novo sistema de clonagem em *Escherichia coli* para expressão de antígenos em fusão com a lipoproteína OprI, um ligando TLR da membrana externa de *Pseudomonas aeruginosa*. O sistema permite um controlo apertado da expressão proteica e a purificação por cromatografia de afinidade com iões metálicos, ultrapassando as principais limitações de versões anteriores. Confirmou-se o processamento, translocação e triacilação da lipoproteína e desenvolveram-se protocolos para a produção de outras formulações recombinantes derivadas da parede bacteriana (fragmentos e vesículas de membrana externa) com potencial distinto para activação PRR. Como modelo, clonaram-se as sequências dos antígenos A104R do vírus da peste suína africana (VPSA), ovalbumina e EGFP. Demonstrou-se a capacidade adjuvante das três formulações, avaliando a resposta humoral e a indução de linfócitos T CD8⁺ *in vivo* e o perfil de citocinas e quimiocinas induzidas em células dendríticas estimuladas *in vitro*. Os resultados observados validam o sistema para a obtenção de formulações imunogénicas com aplicação no desenvolvimento de vacinas subunitárias experimentais e em estudos de modulação de resposta adaptativa.