

A mastite bovina é uma enfermidade comum em vacas leiteiras que provoca a inflamação das glândulas mamárias, podendo ser causada por um amplo espectro de microrganismos e manifestar-se de maneira clínica, com sinais visíveis, ou subclínica, que só é detectada por meio de exames laboratoriais. No Brasil, a mastite é uma doença altamente prevalente e economicamente relevante, impactando diretamente a produção leiteira, comprometendo tanto a produção quanto a comercialização do leite, que se torna impróprio para consumo. Entre as bactérias mais comumente associadas à mastite, destacam-se as do gênero *Staphylococcus* spp., frequentemente resistentes a antibióticos beta-lactâmicos, classe de antimicrobianos amplamente utilizada no tratamento dessa doença. Diante do aumento de cepas resistentes a antimicrobianos, novas estratégias terapêuticas vêm sendo exploradas. Entre as abordagens promissoras estão o uso de bacteriófagos e suas proteínas, que demonstram eficácia no controle da mastite sem promover o desenvolvimento de novas cepas resistentes, consolidando-se como uma alternativa terapêutica promissora. Dessa forma, para analisar a eficácia das proteínas recombinantes no controle das bactérias causadoras da mastite bovina, será utilizada uma VAPGH (*Víri*on-associated *peptidoglycan hydrolases*) do bacteriófago vB_EcoM-UFV13 como alternativa ao uso de antimicrobianos no controle dos patógenos causadores da doença. O processo iniciou com a construção do vetor de expressão contendo a ORF 246, obtida a partir do genoma do fago UFV13, que codifica uma proteína da categoria funcional N-acetil-anidromuramyl-L-alanina amidase, homóloga à proteína Gp37, que foi clonada no vetor pET24a+ contendo a sequência de sinalização OmpA, para a produção da hidrolase. O plasmídeo gerado foi utilizado na transformação em cepas de *E. coli* Top10 e BL21. Obtidos os transformantes, foi realizada a extração plasmidial pelo protocolo de lise alcalina, seguido da realização de um PCR e de eletroforese em gel de agarose para confirmar a transformação. Foi realizado o sequenciamento do plasmídeo para confirmação da clonagem e iniciados os testes de expressão da proteína com uso do indutor IPTG (isopropil β -D-1-tiogalactopiranosídeo) a 0,4 molar. A proteína obtida foi purificada por cromatografia de afinidade com resina de níquel, e sua expressão confirmada por meio de gel de poliacrilamida 10% (SDS-PAGE) e Western blotting. A partir dos resultados obtidos, foi evidenciado que a BL21 ORF 246 apresentou resultado positivo na fração solúvel, mas em tamanho menor do que o peso molecular esperado. Foram feitas buscas por proteínas homólogas a proteína sintetizada, utilizando as ferramentas HHpred e HMMER da MPI Bioinformatics Toolkits, sendo encontrada uma proteína da fibra da cauda do fago T4 que interage com a proteína OmpA no momento da entrada do vírus na célula. Assim, considerando que a proteína homóloga encontrada interage com OmpA, esse resultado pode indicar que o peptídeo de sinalização está endereçando a proteína para um local onde a interação causaria mudanças conformacionais e uma possível degradação. Desse modo, em relação a expressão da ORF 246, é necessário a realização de um sequenciamento das bandas obtidas para confirmar a hipótese de degradação induzida por OmpA. Caso confirmada a hipótese, será necessário obter uma melhor forma de expressão dessa proteína sem a utilização de uma sinalização para o envio extracelular.