



Expressão e purificação da proteína *spike* (S) do SARS CoV-2

Camilla Garcia Regis Leite^{1,2}, Ana Cláudia Alvarenga Carneiro^{1,3}, Maria Clara Nogueira Pereira^{1,4}, Luciana de Souza Fernandes^{1,5}, Vanessa Pecini da Cunha^{1,6}, Sérgio Oliveira de Paula^{1,7}.

¹Laboratório de Imunovirologia Molecular, Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa; ²camilla.leite@ufv.br; ³anaclaudia_alvarenga@outlook.com; ⁴maria.pereira2@ufv.br; ⁵luciana.fernandes@ufv.br; ⁶vpecini@gmail.com; ⁷depaula@ufv.br

Trabalho de Pesquisa, Ciências Biológicas e da Saúde, Biologia Geral

Palavras-chave: SARS CoV-2; proteína *spike*; expressão

Introdução

A pandemia de Covid-19 teve início no final de 2019 na cidade de Wuhan na China e até julho de 2021 resultou na morte de mais de 4 milhões de pessoas em todo o mundo. Esta doença é causada pelo vírus SARS CoV-2 que resulta em uma síndrome respiratória aguda grave e possui como principais sintomas febre, tosse seca e cansaço¹. A proteína *spike* (S) do vírus, uma proteína estrutural e com duas subunidades, a S1 que está associada à capacidade do SARS Cov-2 de reconhecer sua célula hospedeira e ancorar no alvo, e a S2 que tem a função de auxiliar na fusão do vírus com a membrana da célula². Assim, é de extrema urgência que sejam direcionadas pesquisas com o intuito de produção de vacinas e kits diagnósticos para esta doença.

Objetivos

Este trabalho teve como objetivo a expressão e a purificação da proteína S, visando a sua produção para eventuais kits diagnósticos.

Material e Métodos

Transformação em *E. coli* (linhagem SHuffle) com o plasmídeo pET29a/S por choque térmico

Colônias transformantes foram confirmadas por PCR de colônia.

Indução da expressão da proteína S com IPTG em concentrações de 0,25 mM e 0,5 mM por 24 horas.

Western Blotting

SDS-PAGE

Sobrenadante foi coletado e purificado por cromatografia de afinidade ao FPLC.

Resultados e Discussão

A transformação em *E. coli* com o plasmídeo pET29a/S foi confirmada por meio de PCR de colônia, podendo ser observada uma banda acima de 220 KDa que é o esperado da proteína S (figura 1). Além disso, foi observado que a indução na concentração de 0,5 mM de IPTG resultava em uma maior produção da proteína (figura 2).

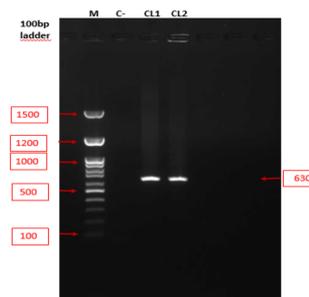


Figura 1: PCR de colônia

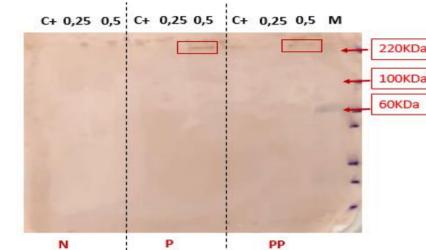


Figura 2: Western Blotting

Conclusões

A obtenção desta proteína para kits diagnósticos de baixo custo é necessária para torná-los mais acessíveis à população em geral que não possui condições para custeá-los, o que facilita o rastreamento de casos positivos de Covid-19 no mundo. Além disso, mais estudos são necessários para estabelecer a padronização da produção da proteína S purificada em larga escala em biorreatores.

Bibliografia

- Sun, W., Leist, S. R., McCroskery, S., Liu, Y., Slamanig, S., Oliva, J., Amanat, F., Schäfer, A., Dinnon, K. H., Garcia-Sastre, A., Krammer, F., Baric, R. S., Palese, P. Newcastle disease virus (NDV) expressing the spike protein of SARS-CoV-2 as a live virus vaccine candidate, EBioMedicine, Volume 62,2020, <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.103132>
- Proteína do SARS-CoV-2 causa danos mesmo sem o vírus. Frotliner, 2021. Disponível em: <https://www.frontliner.com.br/proteina-do-sars-cov-2-causa-danos-mesmo-sem-o-virus/>. Acesso em 16 de julho de 2021.

Apoio Financeiro



Agradecimentos

