



Clonagem e expressão da proteína *Spike* do SARS-CoV-2 visando uma candidata vacinal contra a COVID-19

Maria Regina Fonseca Ramos^{1,2}; Camilla Garcia Regis Leite^{1,3}; John Willians Oliveira Prates^{1,4}; Ana Cláudia Alvarenga Carneiro^{1,5}; Vanessa Pecini da Cunha^{1,6}; Sérgio Oliveira de Paula^{1,7}.

¹Laboratório de Imunovirologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa; ²maria.r.ramos@ufv.br; ³camilla.leite@ufv.br; ⁴john_prates@hotmail.com; ⁵anaclaudia_alvarenga@outlook.com; ⁶vpecini@gmail.com; ⁷depaula@ufv.br.

Trabalho de Pesquisa; Ciências Biológicas e da Saúde; Microbiologia.

Palavras-chave: COVID-19; proteína *Spike*; *Pichia pastoris*.

Introdução

A pandemia de COVID-19 se originou em dezembro de 2019, na província de Wuhan, na China. Estima-se que tenha vitimado, até julho de 2021, mais de 4 milhões de pessoas a nível mundial e infectado em torno de 190 milhões. Apenas em solo brasileiro, os números já são superiores a 540.000 óbitos. Diante disso, a mobilização da comunidade científica internacional e a injeção de capital sem precedentes voltada à mitigação dessa doença determinaram o desenvolvimento de vacinas de forma acelerada e segura. O foco desses imunizantes, tendo em vista seu potencial imunogênico, é a proteína *Spike* de SARS-CoV-2, componente do capsídeo. Responsável pela fusão viral a partir do reconhecimento dos receptores ACE2 nas células humanas, a glicoproteína S é o principal alvo dos anticorpos neutralizantes.

Objetivos

Produção de um antígeno vacinal a partir da expressão heteróloga da proteína *Spike* em *Pichia pastoris* KM71H, sistema que se destaca pelos baixos custos e alto rendimento envolvidos.

Material e Métodos

Para expansão plasmidiana:

Transformação de bactérias *Escherichia coli* por choque térmico



Confirmação via PCR

Em *Pichia pastoris*:

Linearização do plasmídeo por enzima de restrição



Inserção na levedura por eletroporação

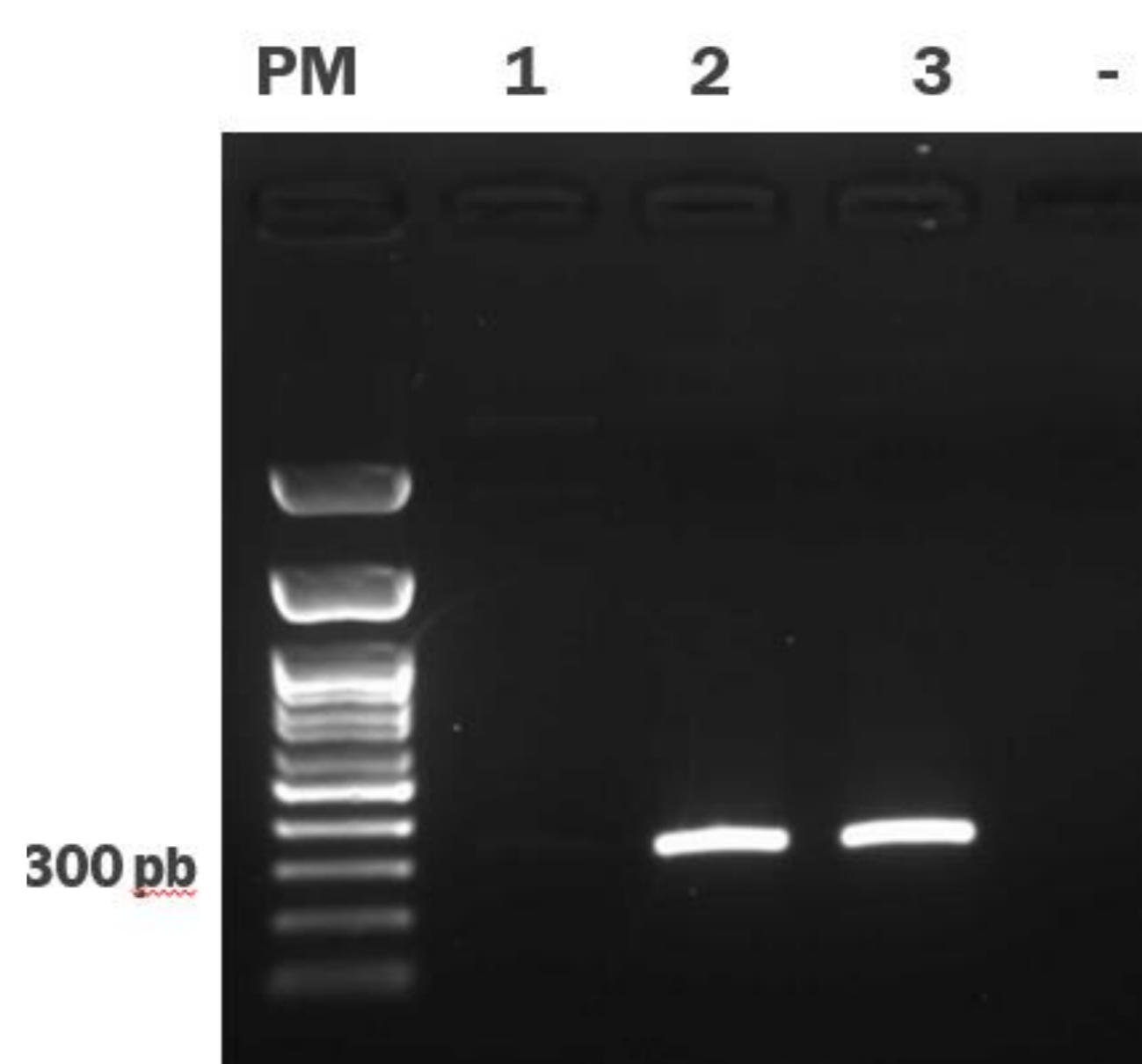


Confirmação via PCR

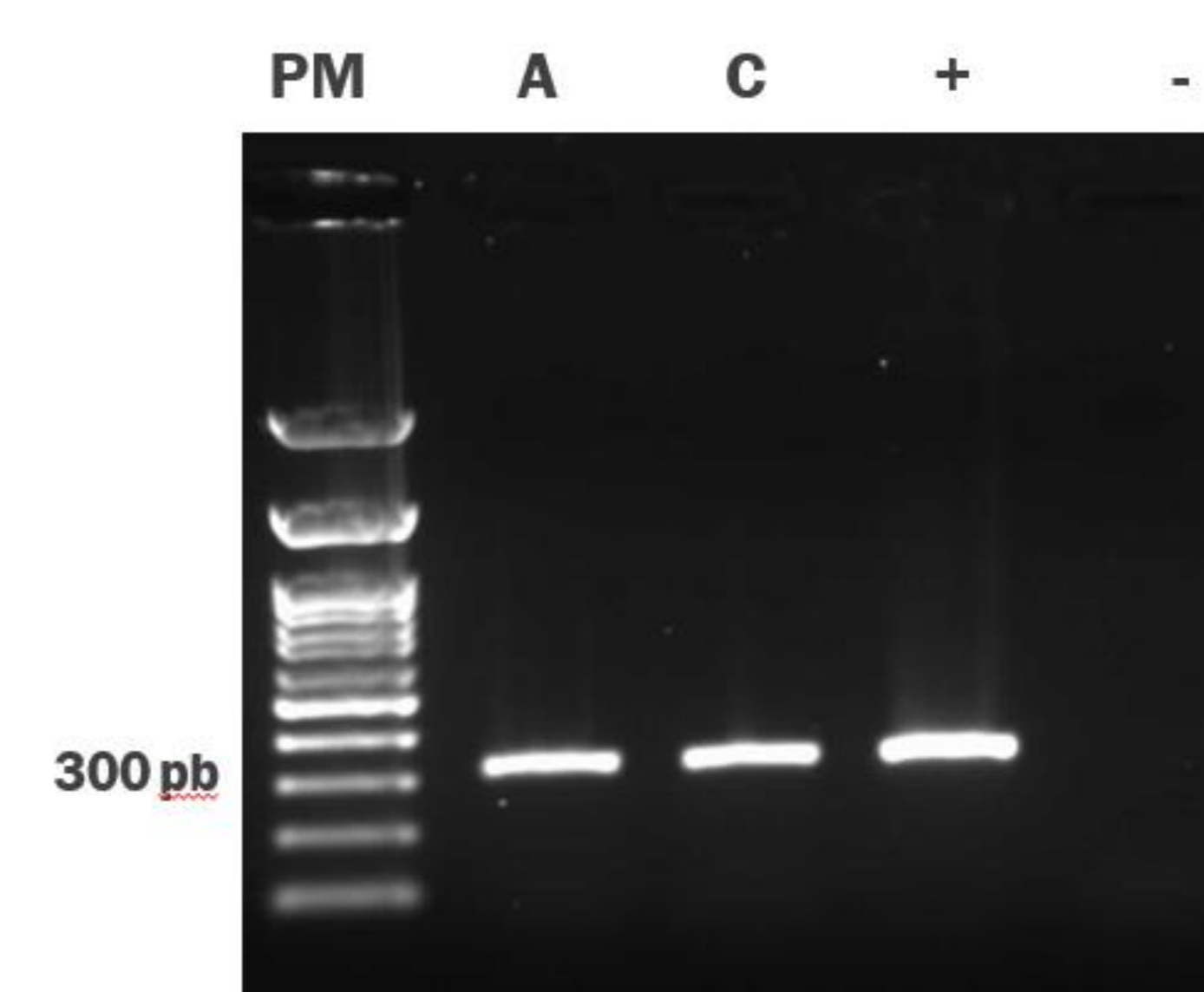
Resultados e Discussão

A inserção do plasmídeo pPICZαA_S_CV19, tanto em bactéria quanto em levedura, foi ratificada por meio de PCR, a qual demonstrou a presença de uma banda na altura esperada – um fragmento de, aproximadamente, 322 pb.

Subclonagem em *E. coli*



Clonagem em *P. pastoris*



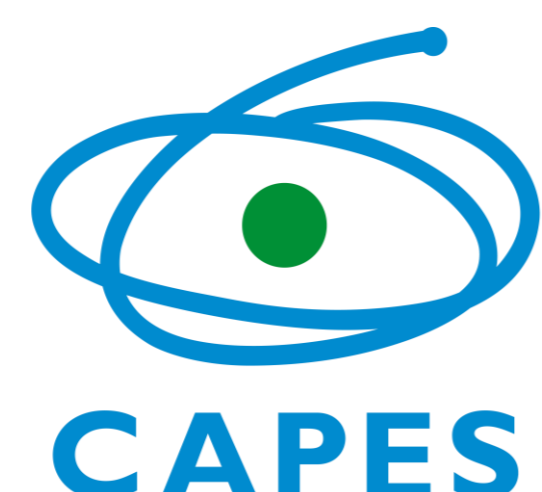
Conclusões

Colocam-se aqui como perspectivas do projeto os experimentos com a levedura transformada induzida com metanol, o qual servirá como única fonte de carbono devido ao promotor AOX inserido em seu gene. A expressão e a secreção da proteína *Spike*, após confirmação por *Western blotting*, possibilitarão a avaliação imunogênica desse antígeno, que se impõe como potencial estratégia para o desenvolvimento de uma vacina em plataforma integralmente brasileira.

Bibliografia

INVITROGEN. Easy Select TM *Pichia* Expression Kit: For Expression of Recombinant Proteins Using pPICZ and pPICZα in *Pichia pastoris*. 2010.

Apoio Financeiro



Agradecimentos

