



Avaliação da expressão e antigenicidade de partículas semelhantes a vírus do SARS-CoV-2

Iago da Cruz Pereira (iago.cruz@ufv.br), Sérgio Oliveira de Paula (depaula@ufv.br), Leonardo Henrique Souza Remer (leonardo.remer@ufv.br), João Vitor da Silva Rodrigues (joao.rodrigues5@ufv.br), Roberto Souza Dias (roberto.dias@ufv.br), Adriele Jéssica do Carmo (adriele.jessica@ufv.br)

Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Palavras chave: SARS-CoV-2; Coronaviridae; Virus-Like Particle

Pesquisa desenvolvida na área de Ciências Biológicas/Virologia

Introdução

- O coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2) compreende o gênero *Betacoronavirus* da família *Coronaviridae*.
- Responsável pela atual pandemia de COVID-19, o SARS-CoV-2 provou-se como uma questão urgente de saúde pública.
- Partícula semelhante a vírus (Virus-Like Particle - VLP) é composta pelas principais proteínas estruturais de um vírus. A VLP assemelha-se ao vírus original em características moleculares e morfológicas, entretanto, não é infecciosa e nem replicante devido à falta do material genético viral.

Objetivos

- O objetivo deste trabalho foi avaliar a expressão e o perfil de resposta de partículas semelhantes a vírus do SARS-CoV-2, obtidas através da co-transfecção em células Vero.

Material e Métodos

- Co-transfecção em células Vero - Foram utilizados quatro plasmídeos contendo as sequências das proteínas estruturais do SARS-CoV-2. As VLPs produzidas foram centrifugadas. Após ultracentrifugação em um colchão de sacarose 20%, os pellets ressuspensos em água MilliQ estéril.
- Western Blotting - As VLPs recuperadas tiveram suas proteínas separadas por SDS-PAGE. Em seguida, foi feita a transferência por eletroforese à uma membrana de nitrocelulose. Foi utilizado um pool de soro de pacientes infectados com SARS-CoV-2, com mais de 30 dias de infecção como anticorpo primário da reação antígeno-anticorpo. Após incubação over-night, a membrana foi lavada e IgG anti-humano conjugado à peroxidase foi aplicado, sendo incubado por 2 horas. A revelação foi feita utilizando o substrato cromogênico 3,3'-Diaminobenzidina (DAB).
- Elisa - Placas de 96 poços foram sensibilizadas com VLPs diluídas em tampão carbonato de cálcio. Após incubação over-night, diferentes soros e pools de soro de pacientes positivados para COVID-19 foram aplicados às placas, fornecendo os anticorpos primários à reação antígeno-anticorpo. Após lavagem das placas, anticorpo secundário IgG anti-humano conjugado à peroxidase foi aplicado. A revelação foi feita utilizando o substrato cromogênico DAB.

Resultados e Discussão

- As VLPs oriundas da Co-transfecção em células VERO apresentaram estrutura e morfologia semelhantes ao vírus original (Fig 1). A análise de western blotting, demonstrou que as VLPs foram reconhecidas pelos anticorpos anti-SARS-CoV-2 presentes nos soros dos pacientes com diagnóstico positivo para Covid19 (Fig 2).

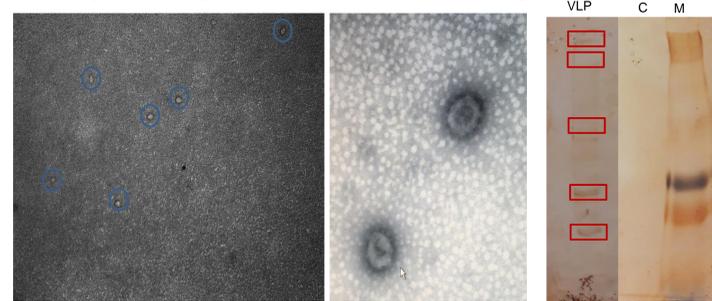


Figura 1: Microscopia eletrônica de transmissão das VLPs do SARS-Cov-2 produzidas no Laboratório de Imunovirologia Molecular.

Figura 2: Um pool de soro de pacientes infectados com o SARS-CoV-2 com mais de 30 dias de infecção foi utilizado como anticorpo primário, e IgG anti-humano conjugado com peroxidase como secundário. M (marcador), C (controle sem transfecção), VLP (VLPs obtidas por ultracentrifugação). Proteínas do SARS CoV (S,M,N,E).

- No ensaio de ELISA, a antigenicidade das VLPs pode ser confirmada ao se observar a Figura 3, na qual a absorbância indica a existência de ligação antígeno-anticorpo nas colunas "#30", "#Pool>14" e "#Pool<15".

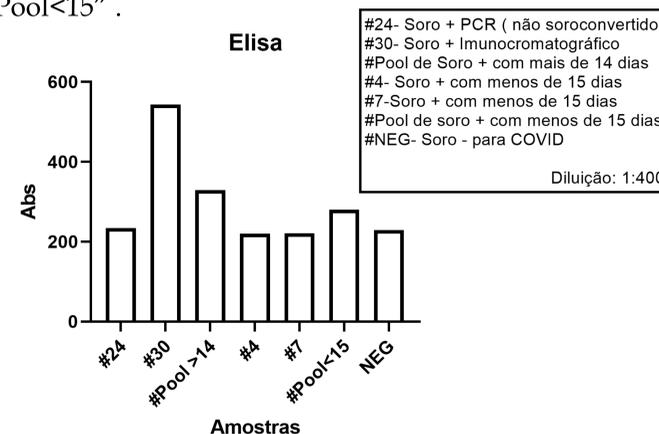


Figura 3: Absorbâncias obtidas via ELISA dos diferentes soros/pools de soro como fontes de anticorpos anti-SARS-CoV-2. Como controle negativo (NEG) foi utilizado soro de pacientes internados em 2016, com outras enfermidades.

Conclusões

- As VLPs do SARS-CoV-2 é uma tecnologia promissora por manter as características originais do vírus de interesse, sua imunogenicidade e especificidade. É necessário a realização de estudos posteriores, para que futuramente possam ser amplamente utilizadas como candidatos vacinais e em testes diagnósticos rápidos.

Apoio Financeiro

Agradecimentos