

Simpósio de Integração Acadêmica

“Bicentenário da Independência: 200 anos de ciência, tecnologia e inovação no Brasil e 96 anos de contribuição da UFV”

SIA UFV 2022



Transformação genética da levedura *Komagataella phaffii* com o gene que codifica o DIII da proteína E de DENV-4

João Pedro Cruz Colombari¹, Sérgio Oliveira de Paula², John Willians Oliveira Prates³, Júlia Maria Alves Meira⁴

¹Departamento de Medicina e Enfermagem, UFV, E-mail: joao.colombari@ufv.br; ²Departamento de Biologia Geral, UFV, E-mail: depaula@ufv.br; ³Departamento de Microbiologia, UFV, E-mail: john_prates@hotmail.com; ⁴Departamento de Medicina e Enfermagem, UFV, E-mail: julia.meira@ufv.br

Área Temática: Imunologia; Grande Área: Ciências Biológicas e da Saúde; Categoria do trabalho: Pesquisa

Palavras-Chave: Vírus da dengue, Expressão heteróloga, *Komagataella phaffii*

Introdução

A dengue é uma doença viral de grande relevância epidemiológica no Brasil, sendo causada pela infecção com o vírus dengue (DENV). Tem como principal meio de transmissão os mosquitos do gênero *Aedes*, sendo o patógeno constituído por quatro sorotipos (DENV-1 ao DENV-4). O material genético do DENV consiste em uma molécula de RNA fita simples que codifica sete proteínas não estruturais e três estruturais (proteína E, prM/M, C). A proteína E encontra-se no envelope viral e possui três domínios (DI, DII, DIII), sendo o DIII o mais promissor, dado a sua elevada imunogenicidade.

Objetivos

Transformar a levedura *K. phaffii* com o gene que codifica o DIII da proteína E de DENV-4, para expressão heteróloga desta proteína, visando a obtenção de um candidato vacinal.

Material e Métodos

A levedura *K. phaffii* foi incubada com o plasmídeo pPICZαA-EDIII-D4, contendo o gene responsável por codificar o DIII da proteína E do DENV-4. Por apresentar o gene de resistência ao antibiótico Zeocin, o plasmídeo recombinante foi usado na seleção das leveduras transformadas. Em seguida realizou a transformação, através da técnica de eletroporação, resultando na integração do plasmídeo ao genoma da levedura. A levedura transformada foi então plaqueada em meio de cultura YPDS, contendo 100 µg/ml do antibiótico Zeocin, e incubada em uma temperatura de 30 °C até o aparecimento das colônias. As colônias selecionadas foram submetidas à técnica de PCR com primer AOX1.

Apoio Financeiro

Resultados e Discussão

Reação de PCR demonstrando detecção de bandas de 1000bp, condizentes com o primer utilizado.

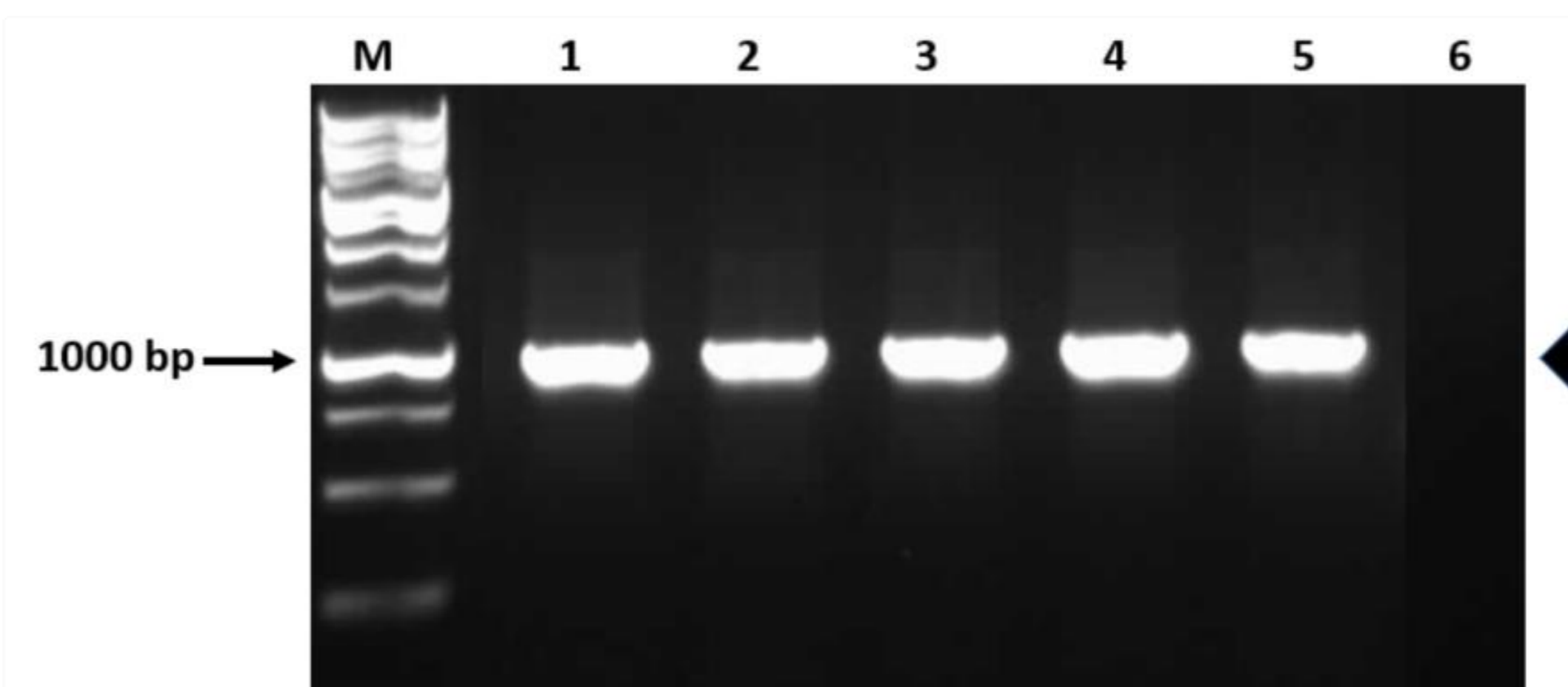


Figura 1: PCR do DNA genômico de *K. phaffii*. M: marcador de peso molecular; 1-5: clones de *K. phaffii* transformada; 6: *K. phaffii* não transformada (controle negativo).

Conclusões

A transformação genética da levedura *K. phaffii* foi realizada de forma eficiente e confirmada com êxito através do PCR. As próximas etapas serão a produção da proteína recombinante, caracterização e avaliação da imunogenicidade in vivo.

Bibliografia

KHETARPAL, N. et al. Recombinant Dengue Virus 4 Envelope Glycoprotein Virus-Like Particles Derived from *Pichia pastoris* are Capable of Eliciting Homotypic Domain III-Directed Neutralizing Antibodies. *Am J Trop Med Hyg*, v.96, n.1, p.126-134, 2017.
ROY, S.K.; BHATTACHARJEE, S. Dengue virus: epidemiology, biology, and disease aetiology. *Can J Microbiol*, v.67, n.10, p.687-702, 2021.

Agradecimentos

