

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



CLONAGEM DA POLIPROTEÍNA ESTRUTURAL DO VÍRUS MAYARO EM *ESCHERICHIA COLI*

Fabiana Martins Costa Fontes, Sérgio Oliveira de Paula, Luciana de Souza Fernandes, Camilla Garcia Regis Leite.

Laboratório de Imunovirologia Molecular, Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa; fabiana.fontes@ufv.br; depaula@ufv.br; luciana.fernandes@ufv.br; camilla.leite@ufv.br;

Mayaro virus; poliproteína estrutural; clonagem; *Escherichia coli*

Ciências Biológicas e da Saúde - Biologia Geral - Pesquisa

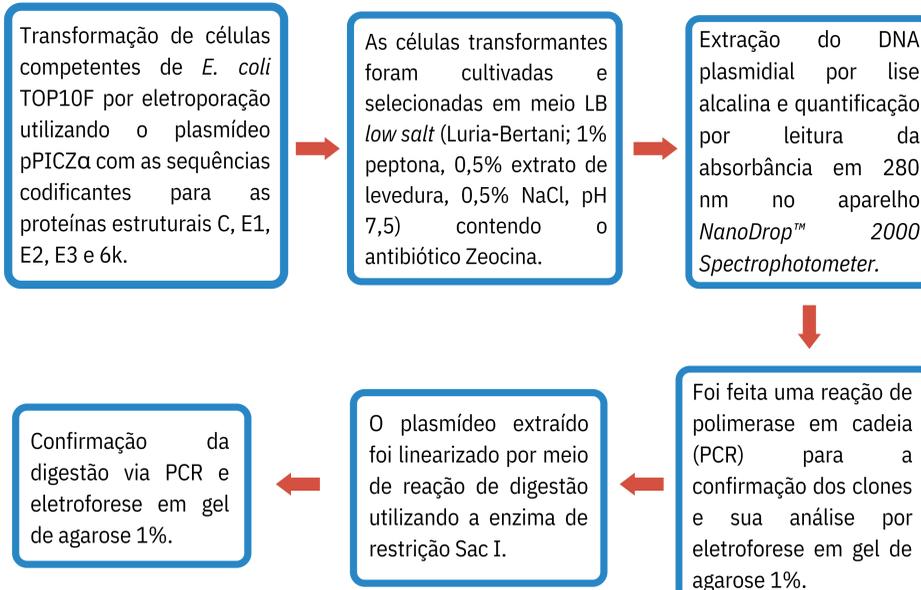
Introdução

O vírus Mayaro (MAYV) é um arbovírus (gênero *Alphavirus*, família *Togaviridae*) endêmico na região Amazônica que vem se espalhando rapidamente para outros locais da América Latina. Em humanos, pode causar a Febre do Mayaro que apresenta uma fase aguda acometida por uma febre grave acompanhada de vômito e diarreia, e uma fase crônica marcada por uma forte mialgia e artralgia extremamente debilitantes. Em estudos, já foi observado que mosquitos domésticos possuem alto potencial de transmissão. Dessa forma, esse vírus pode se tornar um sério problema de saúde pública dada a falta de uma vacina específica, o que reforça ainda mais a necessidade de pesquisas direcionadas a ele.

Objetivos

- Obter clones da bactéria *Escherichia coli* contendo a sequência da poliproteína estrutural de MAYV por meio do vetor de expressão pPICZα;
- Extrair o DNA plasmidial bacteriano;
- Realizar reação de digestão do plasmídeo;

Material e Métodos



Apoio Financeiro



Resultados e Discussão

Assim, a confirmação da transformação em células de *E. coli* TOP10F foi feita pela análise da PCR em gel de agarose 1%, observando a banda com o tamanho esperado do inserto, de 4.256 pb (figura 1). Como também, a verificação da reação de digestão do DNA plasmidial extraído (figura 2).

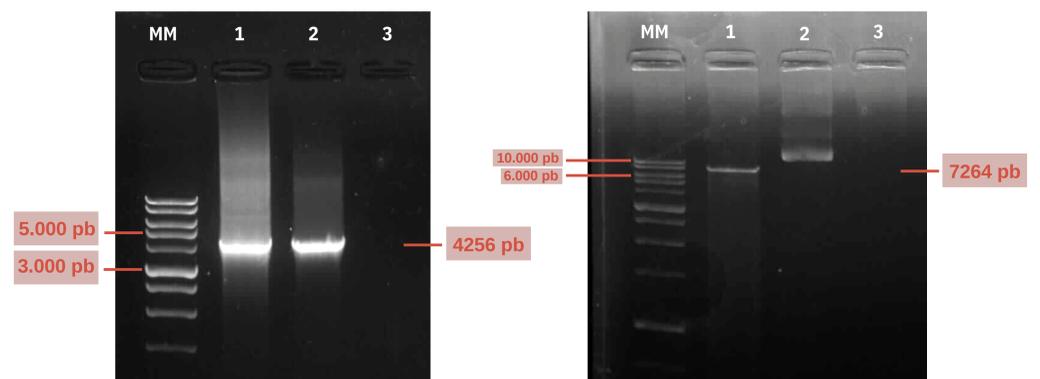


Figura 1: Confirmação da PCR em células de *E. coli* TOP10F. MM: Marcador Molecular; Coluna 1: clone de *E. coli* TOP10F; Colunas 2: controle positivo (plasmídeo comercial); Coluna 3: controle negativo (C-).

Figura 2: Confirmação da PCR da reação de digestão do DNA plasmidial bacteriano extraído. MM: Marcador Molecular; Coluna 1: DNA plasmidial linearizado; Coluna 2: controle positivo (DNA plasmidial sem digerir); Coluna 3: controle negativo (C-).

Conclusões

Portanto, foi observado a clonagem da poliproteína estrutural do vírus *Mayaro* em *Escherichia coli* via *eletroporação*. Esse DNA plasmidial coletado será usado em experimentos futuros, que têm como objetivo expressar as proteínas estruturais de MAYV na forma de *virus-like particles* (VLPs) via levedura *Komagataella phaffii*. Essas VLPs geradas serão aplicadas na criação de um candidato vacinal nacional contra o vírus, além do uso na confecção de novos kits diagnóstico.

Bibliografia

Diagne, C.T.; Bengue, M.; Choumet, V.; Hamel, R.; Pompon, J.; Missé, D. Mayaro Virus Pathogenesis and Transmission Mechanisms. *Pathogens* 2020, 9, 738. <https://doi.org/10.3390/pathogens9090738>

Ribeiro-Filho, H.V., Coimbra, L.D., Cassago, A. et al. Cryo-EM structure of the mature and infective Mayaro virus at 4.4 Å resolution reveals features of arthritogenic alphaviruses. *Nat Commun* 12, 3038 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23400-9>

Agradecimentos

