



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



EXPRESSÃO HETERÓLOGA DO DOMÍNIO DE LIGAÇÃO AO RECEPTOR (RBD) DAS VARIANTES Wild-Type, P.1, B.1.1.7 E B.1.351 DO SARS-CoV-2 EM *Komagataella phaffii*

Camilla Garcia Regis Leite^{1,2}, Luciana de Souza Fernandes^{1,3}, Paloma Cavalcante Cunha^{1,4}, Roberto Sousa Dias^{1,5}, Sérgio Oliveira de Paula^{1,6}

¹Laboratório de Imunovirologia Molecular, Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa; ²camilla.leite@ufv.br; ³luciana.fernandes@ufv.br; ⁴paloma.cavalcante@ufv.br; ⁵rosousa318@yahoo.com.br; ⁶depaula@ufv.br

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

Palavras-Chave: Covid-19; SARS-CoV-2; RBD; *Komagataella phaffii*; Expressão de proteínas;

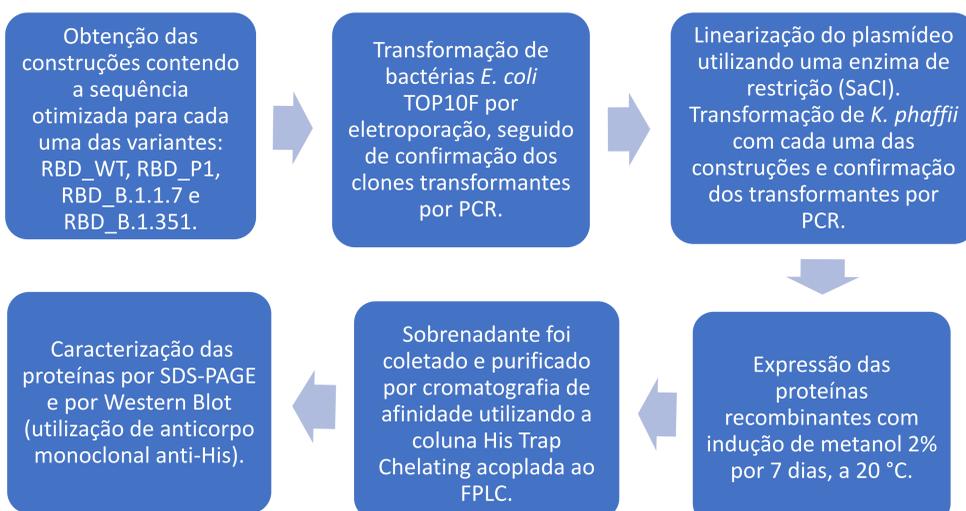
Introdução

A pandemia de Covid-19 se iniciou no final de 2019, na província de Wuhan, na China e até junho de 2022 resultou na morte de mais de 6 milhões de pessoas em todo o mundo. Esta doença é causada pelo coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2) que interage com o receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) nas células hospedeiras através de um pequeno fragmento da proteína *spike* (S) do SARS-CoV-2, o RBD. Atualmente, já existem vacinas sendo comercializadas e a vacinação mundial está bem adiantada, entretanto, ainda é de extrema urgência o desenvolvimento de novos candidatos vacinais contra as variantes que estão surgindo, bem como a padronização de kits diagnósticos de baixo custo.

Objetivos

O trabalho teve como objetivo a expressão heteróloga em *Komagataella phaffii* (*Pichia pastoris*) do Domínio de Ligação ao Receptor (RBD) de quatro variantes do SARS-CoV-2: *wild-type* (WT), P1, B.1.1.7 e B.1.351.

Material e Métodos



Apoio Financeiro



Resultados e Discussão

As clonagens em *E. coli* e *K. phaffii* foram confirmadas, com observação de um fragmento de 446 pb para a construção RBD-WT e de 1210 pb para as outras construções, como o esperado (figuras 1 e 2). Também foi confirmada a expressão das proteínas RBDs em *K. phaffii* na qual foi possível observar as proteínas em diferentes tamanhos, pois houve diferentes níveis de glicosilação, alterando o tamanho molecular esperado de 30 kDa (figura 3).

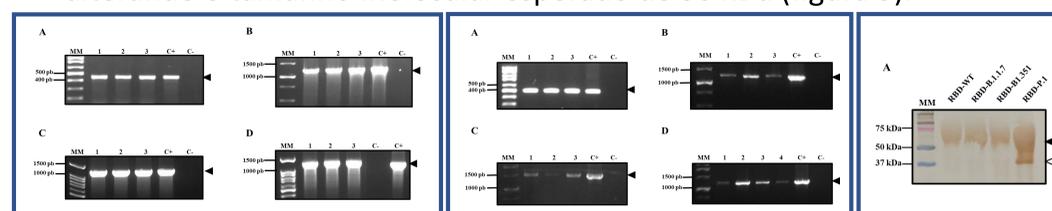


Figura 1: Confirmação do PCR de *E. coli* TOP10F. A: WT; B: B.1.1.7; C: B.1.351 e D: P.1; MM: Marcador Molecular; Colunas de 1 a 3: colônias *E. coli* TOP10F; (C+): controle positivo; (C-): controle negativo.

Figura 2: Confirmação do PCR de *K. phaffii*. A: WT; B: B.1.1.7; C: B.1.351 e D: P.1; MM: Marcador Molecular; Colunas de 1 a 3: colônias *E. coli* TOP10F; (C+): controle positivo; (C-): controle negativo.

Figura 3: Confirmação do Western Blot da proteína RBD expressa em *K. phaffii*. MM: Marcador Molecular; Colunas de 2 a 5: Proteína RBD-WT; RBD-B.1.1.7; RBD-B.1.351 e RBD-P.1, respectivamente.

Conclusões

O desenvolvimento desta plataforma de expressão heteróloga para a produção de vacinas recombinantes no combate à Covid-19 e de kits diagnósticos é promissor e essencial para os dias atuais, haja vista a necessidade de uma resposta rápida frente às novas variantes do vírus que podem surgir no futuro.

Além disso, a utilização de leveduras para a produção de proteínas recombinantes vem sendo amplamente aplicada devido a sua facilidade de manuseio, baixo custo e com capacidade de escalonamento de produção de proteínas heterólogas.

Bibliografia

- World Health Organization. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard [Internet]. Disponível em: <https://covid19.who.int>. Acesso em: 13 junho, 2022.
- SUN, Cong et al. Molecular characteristics, immune evasion, and impact of SARS-CoV-2 variants. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, v. 7, 2022.
- INVITROGEN. Easy Select TM Pichia Expression Kit: For Expression of Recombinant Proteins Using pPICZ and pPICZα in Pichia pastoris. 2010. Available: <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/easyselect_man.pdf>.

Agradecimentos

