

Simpósio de Integração Acadêmica

“Ciências Básicas para o Desenvolvimento Sustentável”

SIA UFV 2023



CLONAGEM DE VIRUS-LIKE-PARTICLES (VLPs) DO VÍRUS MAYARO

Fabiana Martins Costa Fontes - fabiana.fontes@ufv.br, Luciana de Souza Fernandes - luciana.fernandes@ufv.br, Sérgio Oliveira de Paula - depaula@ufv.br.

Laboratório de Imunovirologia Molecular, Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa

Vírus Mayaro, *virus-like particles*, vacina.

Introdução

O vírus Mayaro (MAYV) é um arbovírus (família *Togaviridae* e gênero *Alphavirus*) que tem como principal vetor o mosquito *Haemagogus janthinomys*. Em humanos, provoca uma febre aguda debilitante e os sintomas são muito similares ao de outras arboviroses dificultando o diagnóstico. O MAYV vem se espalhando rapidamente em diversos países o que gera preocupação tendo em vista seu potencial de gerar futuras pandemias já que possui capacidade de infectar mosquitos adaptados ao ciclo urbano. Assim, é necessário desenvolver alternativas para proteção da população já que não existem tratamentos específicos. Uma das possibilidades seria o uso de *virus-like particles* (partículas com características morfológicas semelhantes às do vírus sem o material genético viral) que apresentam uma opção mais segura para produção de vacinas.

Objetivos

Avaliar a clonagem da sequência da poliproteína estrutural de MAYV em vetor de expressão pPICZ α A, contendo as proteínas estruturais, do envelope viral C, E1, E2 e E3, e a proteína 6k em *Escherichia coli*.

Material e Métodos

- Transformação de células competentes de *E. coli* TOP10F via eletroporação utilizando o plasmídeo pPICZ α A contendo as sequências codificantes para as proteínas estruturais C, E1, E2, E3 e 6k do MAYV.
- Os transformantes foram cultivados e selecionados em meio LB *low salt* (Luria-Bertani; 1% de peptona, 0,5% de extrato de levedura, 0,5% de NaCl) acrescido do antibiótico Zeocin™(20 μ g/mL).
- Em seguida, o DNA do plasmídeo foi extraído por lise alcalina e quantificado através da leitura da absorbância a 260 nm no espectrofotômetro NanoDrop™ 2000.
- A transformação foi confirmada por PCR utilizando os primers específicos para o promotor AOX1 e visualização do resultado em eletroforese de gel de agarose a 1%.
- Após a confirmação, o DNA plasmidial das células transformadas foi linearizado numa reação de digestão com a enzima EcoRI.

Resultados e Discussão

A confirmação foi dada pela observação do tamanho esperado da banda do inserto de 4256 pb (Figura 1). Após a confirmação, o DNA plasmidial das células de *E. coli* transformadas foi linearizado numa reação de digestão com a enzima EcoRI (figura 2).

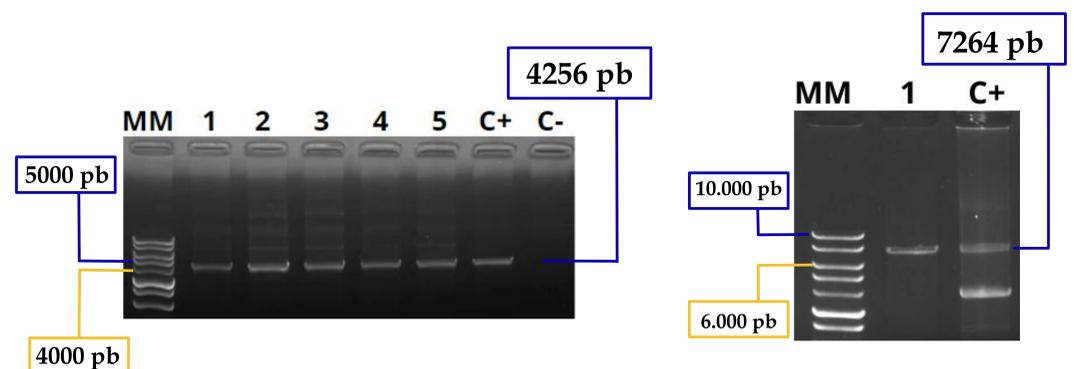


Figura 1: Confirmação da PCR em células de *E. coli* TOP10F. MM: Marcador Molecular; Coluna 1 a 5: clones de *E. coli* TOP10F; (C+): controle positivo (plasmídeo comercial); (C-): controle negativo.

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).

Conclusões

Assim, foi possível observar a clonagem da poliproteína estrutural do vírus Mayaro em *E. coli* via eletroporação. As células transformantes serão usadas para expressar as proteínas estruturais de MAYV na forma de *virus-like particles* (VLPs). As VLPs geradas serão avaliadas para aplicação na criação de um candidato vacinal nacional contra o vírus, além do uso na confecção de novos kits diagnóstico.

Bibliografia

Abbo SR, Nguyen W, Abma-Henkens MHC, van de Kamer D, Savelkoul NHA, Geertsema C, Le TTT, Tang B, Yan K, Dumenil T, van Oers MM, Suhrbier A, Pijlman GP. Comparative Efficacy of Mayaro Virus-Like Particle Vaccines Produced in Insect or Mammalian Cells. *J Virol*. 2023 Mar 30;97(3):e0160122. doi: 10.1128/jvi.01601-22. Epub 2023 Mar 8. PMID: 36883812; PMCID: PMC10062127.

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>.

Agradecimentos

Apoio Financeiro

