

Simpósio de Integração Acadêmica

“Ciências Básicas para o Desenvolvimento Sustentável”

SIA UFV 2023



CONSTRUÇÃO DE UM BANCO DE CÉLULAS PARA A PRODUÇÃO DE ANTÍGENO QUIMÉRICO DE *Leptospira spp.* EM *Escherichia coli*

Bárbara Braga Ferreira¹; Luana de Sousa Ramos²; Larissa Coelho Pereira³; Elói Quintas Gonçalves da Silva⁴; Arthur Wakim Enrici⁵; Gustavo Costa Bressan⁶.

¹ Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, barbara.b.ferreira@ufv.br / ² Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, luana.ramos@ufv.br / ³ Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, larissa.c.pereira@ufv.br / ⁴ Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, elói.silva@ufv.br / ⁵ Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, arthur.enrici@ufv.br / ⁶ Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, gustavo.bressan@ufv.br.

Palavras-Chave: Proteína quimérica, Banco de células, Leptospirose

Área Temática: Bioquímica; **Grande Área:** Ciências Biológicas e da saúde; **Categoria do Trabalho:** Pesquisa

Introdução

A leptospirose é uma zoonose que afeta tanto seres humanos quanto animais. É uma doença infecciosa negligenciada causada pela bactéria espiroqueta e Gram negativa *Leptospira spp.* Existem mais de 260 sorovares patogênicos que divergem na composição dos lipopolissacarídeos (LPS) da parede celular bacteriana. As vacinas comerciais contra a leptospirose são bacterinas, que consistem em formulações contendo células inativadas dos principais sorovares circulantes. Devido à grande variabilidade antigênica desse patógeno, esse veículo de imunização possui eficácia limitada, pois a resposta imunológica gerada depende do sorovar utilizado no momento da vacinação. Uma forma de contornar esse problema é por meio do desenvolvimento de vacinas recombinantes que possibilitam uma maior abrangência na proteção contra os diferentes tipos de sorovares da bactéria, visto que estas apresentam maior segurança e possibilidade de imunização cruzada, utilizando a expressão heteróloga.

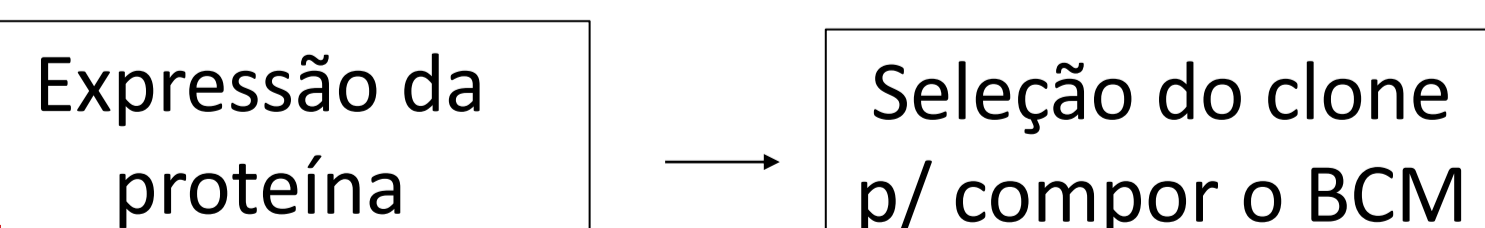
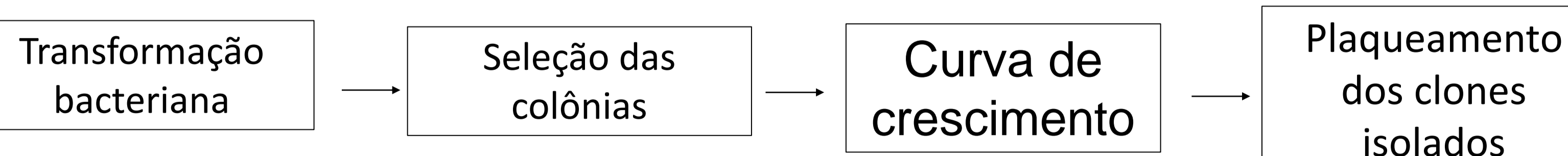
A expressão heteróloga é um mecanismo simples e de baixo custo utilizado para a produção de proteínas recombinantes em laboratórios. Esse método utiliza um sistema procarioto para a produção, uma vez que estes possibilitam a edição gênica para melhor adequação ao que se deseja produzir, além de serem seguros e de fácil acesso. Porém, esse método possui algumas etapas repetitivas como a transformação uma vez que não é possível manter essa cultura de células estocadas por muito tempo.

A fim de contornar esse problema a estratégia utilizada seria a construção de um banco de células específico para a produção desse antígeno quimérico de leptospirose, reduzindo o tempo de produção, os custos e padronizando a expressão já que ele é definido através da seleção de colônias advindas de um mesmo clone isolado da cultura de células.

Objetivos

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi Construir e caracterizar um banco de células mestre através da seleção de clones de *E. coli* C41 (DE3) de antígeno quimérico de *Leptospira spp.*

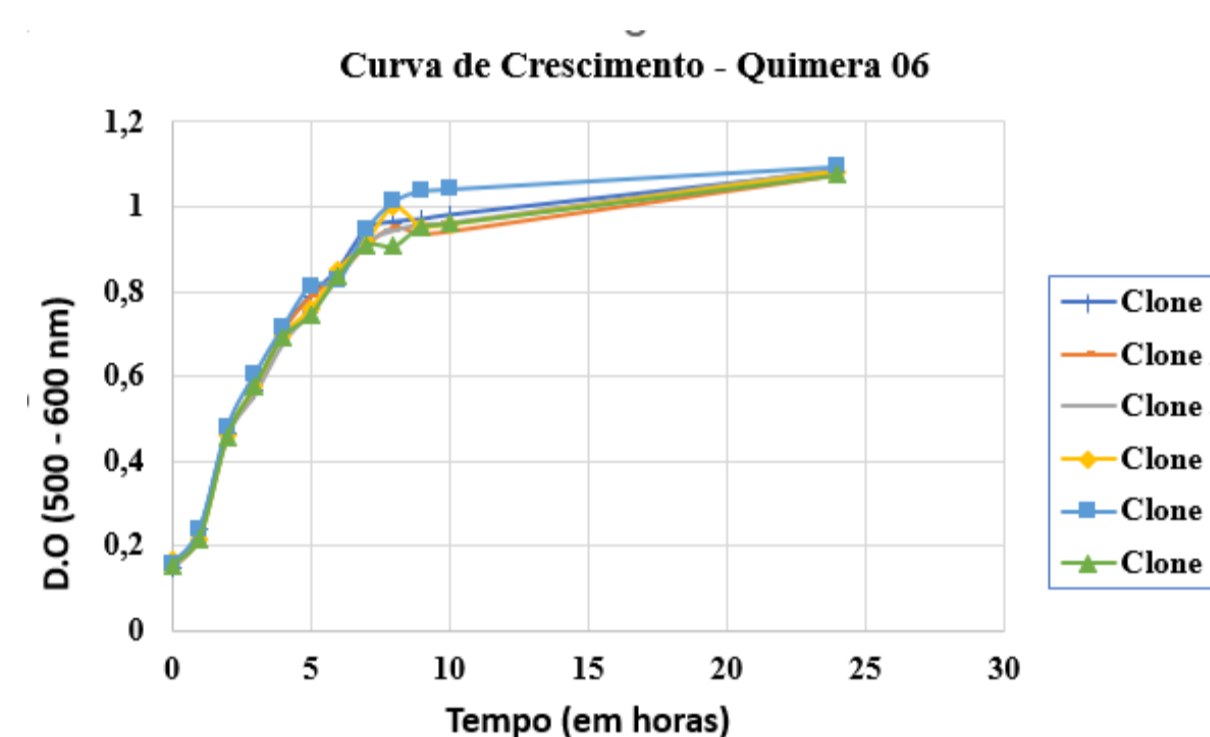
Material e Método



Apoio financeiro

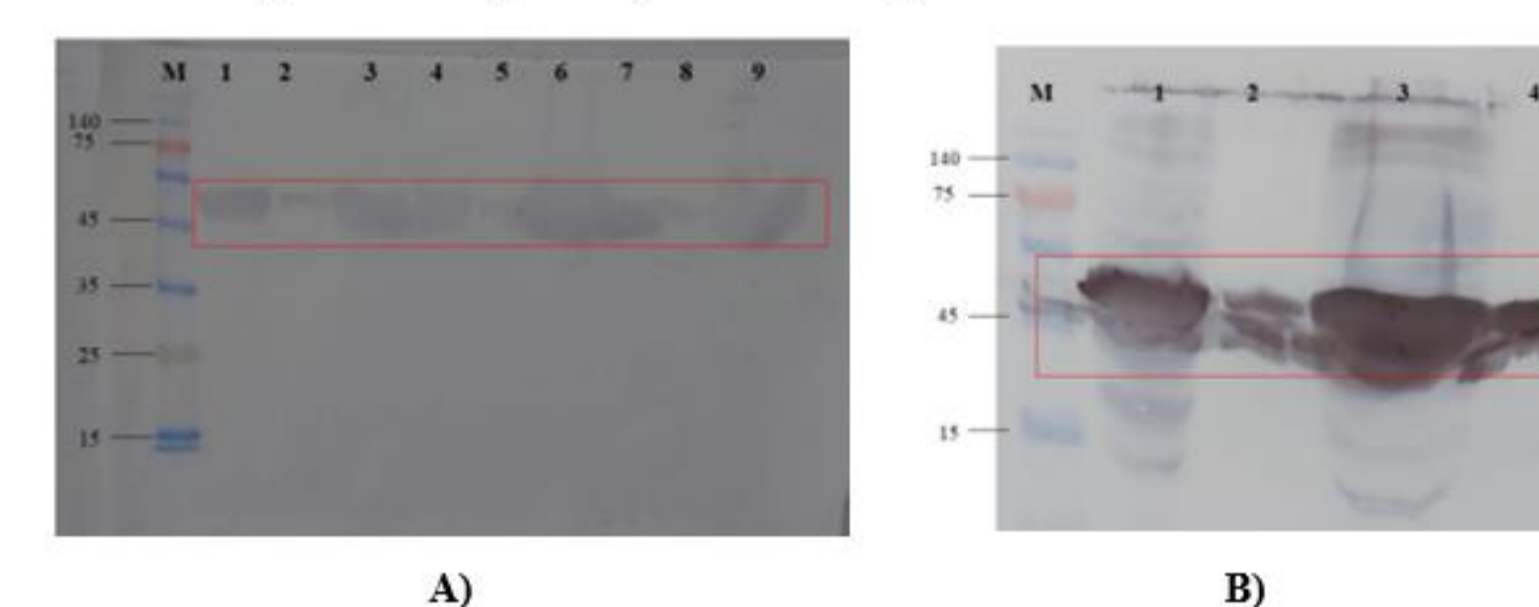


Resultados e Discussão



A análise da curva de crescimento presente na figura indica que os clones de 01 a 04 e 06 cresceram paralelamente enquanto o clone 05 atingiu a DO_{600nm} 0,6 mais rapidamente tornando-o um forte candidato a compor o BCM. Entretanto, os demais clones seguiram sendo testados, uma vez que o clone foi selecionado com base em um conjunto de fatores.

Utilizando a metodologia de Western blot, as frações insolúveis foram analisadas junto ao extrato bruto e fração solúvel como mostrado na figura. Os resultados apontaram que o clone 6 apresenta maior banda de expressão e que a proteína foi expressa em sua forma insolúvel.



Western blot e SDS-PAGE das frações de indução. A. Western blot das frações de indução dos clones 1, 2, 5, 6. M. Marcador de peso molecular (Sinapse), 2. Extrato bruto (clone 1), 3. Fração solúvel (clone 1), 4. Fração insolúvel (clone 1), 5. Extrato bruto (clone 2), 6. Fração solúvel (clone 2), 7. Fração insolúvel (clone 2). 7. Extrato bruto (clone 5), 8. Fração solúvel (clone 5), 9. Fração insolúvel (clone 5). B. M. Marcador de peso molecular (Sinapse), 1. Extrato bruto (clone 6), 2. Fração solúvel (clone 6), 3. Fração insolúvel (clone 6) e 4. Proteína purificada. C. Gel SDS-PAGE 12%. M. Marcador de peso molecular (Sinapse), 2. Extrato bruto (clone 1), 3. Fração solúvel (clone 1), 4. Fração insolúvel (clone 1), 5. Extrato bruto (clone 2), 6. Fração solúvel (clone 2), 7. Fração insolúvel (clone 2), 8. Extrato bruto (clone 5), 9. Fração solúvel (clone 5), 10. Fração insolúvel (clone 5), 11. Extrato bruto (clone 6), 12. Fração solúvel (clone 6), 13. Fração insolúvel (clone 6) e 14. Proteína purificada.

Conclusões

A seleção de um clone para o estabelecimento de um banco de células para a produção de um antígeno quimérico de leptospirose foi eficaz. Por meio de experimentos de cinética de crescimento e indução da proteína foi possível testar seis clones transformantes da *E. coli* C41 (DE3) e isolar um clone que possibilitasse a padronização da proteína quimérica.

Bibliografia

- ADLER, Ben. Vaccines against leptospirosis. *Leptospira and leptospirosis*, p. 251-272, 2014.
- BASHIRU, G.; BAHAMAN, A. R. Advances & challenges in leptospiral vaccine development. *Indian Journal of Medical Research*, v. 147, n. 1, p. 15, 2018.
- CHEN, Rachel. Bacterial expression systems for recombinant protein production: *E. coli* and beyond. *Biotechnology advances*, v. 30, n. 5, p. 1102-1107, 2012.
- FARIA, S. G. et al. Estabelecimento e caracterização de um banco de células de trabalho para produção da enzima Taq DNA polimerase. 2017. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
- JEON, C. O.; JIA, B. High-throughput recombinant protein expression in *Escherichia coli*: current status and future perspectives. *Open biology*, v. 6, n. 8, p. 160196, 2016

Agradecimentos

