

CLONAGEM E EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS DO CHIKUNGUNYA VÍRUS EM ESCHERICHIA COLI

XXXVII Encontro de Iniciação Científica

Maria Lorena Bonfim Lima, KALIL MUBARAC ANDRADE ROMCY, ERIDAN ORLANDO PEREIRA TRAMONTINA FLOREAN, Eridan Orlando Pereira Tramontina Florean

O Chikungunya vírus (CHIKV) está atualmente entre os arbovírus que mais causam preocupação mundial, representando uma ameaça à saúde pública. Esta doença tem demonstrado uma grande capacidade de dispersão, sendo detectada em várias regiões do Brasil e em diferentes países. Entretanto, devido à baixa ocorrência de surtos fora do eixo Estados Unidos da América/Europa, poucos investimentos vêm sendo feitos para a fabricação de kits de diagnóstico rápido e vacinas contra esta doença. Portanto, o objetivo desse trabalho foi a clonagem e a expressão dos genes de CHIKV em *Escherichia coli*, viabilizando, assim, a produção de proteínas recombinantes que venham a ser utilizadas no desenvolvimento de anticorpos contra o vírus. Para tanto, as sequências gênicas das nove proteínas do patógeno foram selecionadas no GenBank sob número de acesso KP164572.1. Após as sequências serem sintetizadas (empresa Bio Basic Canada Inc), os insertos foram clonados utilizando as enzimas de restrição EcoRI e BamHI. Logo após a digestão, as sequências foram ligadas no vetor de expressão pET-28a e inseridas em cepas de *E. coli* DH10B. Depois de sua multiplicação, os plasmídeos recombinantes foram então purificados e inseridos em *E. coli* BL21 para expressão das proteínas. A indução dos genes ocorreu com diferentes concentrações de IPTG (Isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside) e temperatura. Como resultado obtiveram-se insertos com os tamanhos esperados na etapa de clonagem, o que foi confirmado por meio de PCR (Polymerase Chain Reaction) e gel de agarose a 1%. Os níveis de expressão das proteínas recombinantes do CHIKV foram analisados por gel de acrilamida SDS-Page 12% e Western Blotting, e esses resultados serão apresentados. Tais resultados demonstram a viabilidade da produção in house de antígenos recombinantes que podem ser utilizados na composição de possíveis vacinas e novos testes diagnósticos contra o CHIKV no mercado brasileiro.

Palavras-chave: Arboviroses. Chikungunya. Proteínas. Expressão.