

**REENCONTROS
NOVOS ESPAÇOS
OPORTUNIDADES**

XXXIV SIC Salão Iniciação Científica

26 - 30
SETEMBRO
CAMPUS CENTRO

Evento	Salão UFRGS 2022: SIC - XXXIV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2022
Local	Campus Centro - UFRGS
Título	Produção de insumos baseados em bactérias recombinantes para o diagnóstico da COVID-19
Autor	GUILHERME GOLDSTEIN PECOITS
Orientador	KARINA MARIANTE MONTEIRO

PRODUÇÃO DE INSUMOS BASEADOS EM BACTÉRIAS RECOMBINANTES PARA O DIAGNÓSTICO DA COVID-19

Guilherme Goldstein Pecoits

Magno Sinval Pereira Ribeiro; Ederson Leonardo de Azevedo Ignácio

Orientadora: Profa. Dra. Karina Mariante Monteiro

O vírus SARS-CoV-2, responsável pela COVID-19, já infectou e matou milhões de pessoas ao redor do mundo. Assim sendo, é necessário um monitoramento eficiente sobre sua dispersão para melhores tomadas de decisões no combate a pandemia. Os testes padrão-ouro utilizados para detecção do vírus se baseiam em metodologias de amplificação de ácidos nucleicos, como RT-PCR e RT-LAMP, os quais dependem de insumos de alto custo. Assim, o presente trabalho tem o objetivo de desenvolver insumos de baixo custo baseados em bactérias recombinantes e seus extratos celulares para uso no diagnóstico molecular da COVID-19. Para tal, foram padronizadas as condições de expressão das DNA-polimerases de *Thermus aquaticus* (Taq), de *Pyrococcus furiosus* (Pfu) e do Vírus da Leucemia Murina de Moloney (MMLV-RT) em *Escherichia coli*. As células bacterianas foram desidratadas por centrifugação a vácuo em SpeedVac e armazenadas a -20 °C, 4 °C ou temperatura ambiente. Diferentes concentrações de células reidratadas foram avaliadas em ensaios de PCR, qPCR RT-PCR e RT-qPCR em comparação com as enzimas comercialmente disponíveis. Níveis elevados de expressão foram observados tanto para Taq quanto para Pfu, contudo, a MMLV-RT recombinante apresentou baixos níveis de expressão em todas as condições testadas. Foi testada indução com IPTG e com meio de autoindução contendo lactose. Os insumos baseados em bactérias recombinantes desidratadas apresentaram ótimos resultados nas reações de PCR e RT-PCR, mostrando eficiência semelhante à das enzimas comerciais. Contudo, nossos resultados mostraram que a alta concentração de células bacterianas pode afetar a especificidade da reação e causar efeito gancho na detecção por qPCR. Assim, ensaios de PCR e qPCR estão sendo realizados com extratos das células bacterianas na tentativa de melhorar a especificidade da reação e o gene codificador da MMLV-RT será clonado em novo vetor de expressão.

Laboratório de Genômica Estrutural e Funcional, Centro de Biotecnologia,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Financiamento: PPSUS, FAPERGS, CNPq, Decit/SCTIE/MS, SES-RS e BIC/UFRGS