



**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 e otimização do uso de extratos de bactérias expressando a enzima Taq DNA-polimerase em ensaios de PCR
Autor	EDERSON LEONARDO DE AZEVEDO IGNÁCIO
Orientador	KARINA MARIANTE MONTEIRO

Autor: Ederson Leonardo de Azevedo Ignácio
Orientadora: Profa. Dra. Karina Mariante Monteiro
Co-autor: Prof. Dr. Arnaldo Zaha
Co-autor: Prof. Dr. Henrique Bunselmeyer Ferreira
Co-autor: Magno Sinval Pereira Ribeiro
Co-autor: Guilherme Goldstein Pecoits

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

Os testes de amplificação de DNA são o padrão-ouro para o diagnóstico de diversas doenças, dentre elas, a COVID-19. Entretanto, esses testes dependem de insumos de alto custo, o que limita a sua aplicação em larga escala, principalmente nos países em desenvolvimento. A produção de insumos biotecnológicos é um processo complexo que exige um investimento substancial de recursos, pessoal especializado, equipamentos caros e infraestrutura, principalmente nas etapas de purificação. Além disso, esses reagentes necessitam de armazenamento e transporte a baixas temperaturas. O Brasil é altamente dependente da importação de insumos biotecnológicos devido a sua inexpressiva produção nacional. O desenvolvimento e produção local de insumos biotecnológicos é extremamente relevante para aumentar o acesso da população aos testes diagnósticos. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi expressar a enzima DNA-polimerase de *Thermus aquaticus* (Taq) em bactérias e desenvolver protocolos para a aplicação de extratos celulares como insumos em reações de PCR. Para isso, células de *Escherichia coli* foram transformadas com plasmídeo contendo a sequência codificadora da Taq DNA-polimerase e as condições de expressão da enzima recombinante foram otimizadas a partir da avaliação de diferentes cepas bacterianas, meios de cultivo, temperatura de crescimento e concentração da molécula indutora. As bactérias foram lisadas por sonicação e os extratos celulares foram liofilizados e armazenados em diferentes temperaturas (-20 °C, 4 °C e temperatura ambiente). Posteriormente, os extratos liofilizados foram reidratados e testados em reações de PCR em comparação com a enzima comercial. Foram observados altos níveis de expressão da enzima Taq DNA-polimerase recombinante em *E. coli*. Os extratos de bactérias expressando a enzima recombinante mostraram atividade em ensaios de PCR, apresentando eficiência comparável a da enzima comercial na amplificação de até 10⁵ cópias de DNA. Além disso, nossos resultados demonstraram que os extratos liofilizados se mantiveram estáveis quando armazenados a 4 °C e temperatura ambiente por até uma semana. Posteriormente, os extratos celulares serão avaliados por qPCR em comparação com a enzima comercial. Após, serão gerados extratos de bactérias expressando a enzima transcriptase reversa (MMLV-RT) para o desenvolvimento de um ensaio de RT-PCR com insumos baseados em bactérias recombinantes.

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

