

Universidade de São Paulo Instituto de Física de São Carlos

Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos

13^a edição

Livro de Resumos

São Carlos
2023

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Informação do IFSC

Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos
(13: 21-25 ago.: 2023: São Carlos, SP.)

Livro de resumos da XIII Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo / Organizado por Adonai Hilário da Silva [et al.]. São Carlos: IFSC, 2023.
358p.

Texto em português.

1.Física. I. Silva, Adonai Hilário da, org. II. Título.

ISSN: 2965-7679

PG65

Descoberta de candidatos antivirais contra a protease nsP2pro de Chikungunya

FERNANDES, Rafaela Sachetto¹; OLIVA, Glaucius¹; CIPRIANO, Lavinia¹; DOLCI, Isabela¹; GODOY, Andre Schutzer de¹

lavinia@ifsc.usp.br

¹Instituto de Física de São Carlos - USP

O vírus Chikungunya (CHIKV) é um arbovírus da família *Togaviridae*, transmitido pela picada de mosquitos das espécies *Aedes albopictus* e *A. aegypti*. (1) Infecções causadas pelo CHIKV foram registradas pela primeira vez na Tanzânia, em 1952, durante um surto de febre chikungunya ocorrido na região. (2) Após este primeiro relato, inúmeras infecções por CHIKV foram identificadas em países da Ásia e África subsaariana, e na última década, o vírus se espalhou por mais de 100 países nas Américas, África, Europa e Ásia, afetando inclusive o Brasil, onde o número de casos vem aumentando desde o primeiro surto de febre chikungunya em 2014. Até o presente momento, não foi estabelecido um protocolo de tratamento para a febre chikungunya, e não há uma vacina disponível, sendo tomadas apenas medidas para alívio dos sintomas. A demanda por um tratamento e um vacina contra CHIKV é cada vez mais urgente, já que é considerada uma doença tropical negligenciada, afetando principalmente pessoas de classe socioeconômica mais baixa e países subdesenvolvidos, onde o controle de vetores é a única medida profilática apresentada, limitando a contenção do vírus. (3) A protease nsP2pro do CHIKV, uma cisteína viral protease, é responsável por processar quatro poliproteínas não estruturais (nsPs), que formam o complexo de replicação, sendo assim outro alvo promissor para drogas. Os objetivos deste trabalho incluem a clonagem, expressão e purificação da nsP2pro, para sua posterior caracterização e busca de potenciais compostos antivirais. Os genes sintéticos codificadores das proteínas de CHIKV foram sintetizados pela empresa GenScript, com base na sequência GenBank KY703894.1. A clonagem do fragmento codificante da nsP2 domínio protease foi realizada utilizando o método Gibson Assembly e o vetor pET-M11. Os plasmídeos contendo os fragmentos de interesse são utilizados para transformar células de *Escherichia coli* pelo método de choque-térmico em diferentes linhagens de expressão. Os plasmídeos de interesse são purificados utilizando um kit comercial, o PureYield™ Plasmid Miniprep System (PROMEGA®), segundo as especificações do fabricante. Em seguida, os plasmídeos extraídos e purificados são transferidos para as linhagens de expressão no qual foi utilizada Rosetta2 (DE3). As linhagens bacterianas, já contendo os vetores de interesse, foram utilizadas para testes de expressão em meio TB contendo antibióticos apropriados, crescidos à 37 °C durante 12 h, sob a agitação de 200 rpm, até a D.O. atingir o valor de 600 nm para então, logo depois adicionar 0,5 mM de isopropil β -D-1-thiogalactopiranosídeo (IPTG) ao meio, e continuar a agitação à 18 °C por cerca de 12 h. Após a expressão, as bactérias foram submetidas à centrifugação e lise celular para purificação. A purificação foi feita por cromatografia de afinidade por níquel em uma coluna HisTrap e uma segunda etapa utilizando a coluna HiLoad Superdex 75 16/60 (GE Healthcare®). A pureza das amostras é checada em cada passo através do gel de eletroforese 15% (SDS-Page).

Palavras-chave: Chikungunya. Protease. Antivirais.

Agência de fomento: FAPESP (2022/01266-3)

Referências:

- 1 VAN AALAST, M. *et al.* Long-term sequelae of chikungunya virus disease: a systematic review. **Travel Medicine and Infectious Diseases**, v.15, p.8-22, 2017.
- 2 GELFAND, M. The Sick African. Cape Town: Stewart Printing Co. 1948
- 3 MILLSAPPS, E. M.; UNDERWOOD, E. C.; BARR, K. L. Development and application of treatment for Chikungunya fever. **Research and Reports in Tropical Medicine**, v.13, p.55-66, 2022.