



XXXIII SIC SALÃO INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Evento	Salão UFRGS 2021: SIC - XXXIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2021
Local	Virtual
Título	Produção de transcriptase reversa recombinante para detecção de Sars-cov-2
Autor	FERNANDO JUNIOR BIEDERMANN
Orientador	GIANCARLO PASQUALI

Autor.: Fernando Junior Biedermann
Orientador.: Giancarlo Pasquali
UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Biociências

Produção de transcriptase reversa recombinante para detecção de Sars-cov-2

A utilização da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) tornou-se muito comum como teste clínico para determinar a presença de material genético do vírus Sars-CoV-2 em amostras biológicas de pacientes durante a pandemia da Covid-19. Sendo um vírus com genoma constituído por uma molécula de RNA fita-simples, há a necessidade de se utilizar transcriptase reversa como um dos reagentes para o teste de PCR. Por causa disso, a demanda de mercado por essa enzima cresceu recentemente. Tendo em vista essa demanda, objetivou-se a obtenção da transcriptase reversa do vírus da leucemia murina (MMLV-RT) recombinante purificada para a exploração comercial da mesma. Para isso, a sequência do gene para a MMLV-RT foi inserida no plasmídeo pET23a com gene de resistência à ampicilina e adição de cauda de poli-histidina, formando o vetor recombinante que foi clonado e utilizado para transformar por choque-térmico culturas de *Escherichia coli* BL21 pTGROE, que possuem um plasmídeo para expressão de chaperonas e gene de resistência ao cloranfenicol. Todas as culturas foram efetuadas em meio Luria Bertani (LB) ou ágar-LB a 37°C e a expressão foi induzida por meio da adição de Isopropyl β -d-1-thiogalactopyranoside (IPTG) 1mM com as culturas mantidas a 20°C sob agitação. As células bacterianas foram lisadas e a MMLV-RT recombinante foi purificada do extrato por cromatografia de afinidade. Conseguiu-se produzir a MMLV-RT recombinante ativa com um rendimento máximo de 9 mg por litro de cultivo. Planeja-se, posteriormente, otimizar as condições para obter melhores rendimentos da proteína recombinante e também avaliar a possibilidade de se utilizar meios de autoindução contendo lactose para indução da expressão, o que permitiria reduzir gastos com IPTG.