



Anna Maria Gouvea
de Souza Melero
(Organizadora)

Premissas da Iniciação Científica 4

Atena
Editora

2019

Anna Maria Gouvea de Souza Melero
(Organizadora)

Premissas da Iniciação Científica

4

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Lorena Prestes e Geraldo Alves

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

P925 Premissas da iniciação científica 4 [recurso eletrônico] /
Organizadora Anna Maria Gouvea de Souza Melero. – Ponta
Grossa (PR): Atena Editora, 2019. – (Premissas da Iniciação
Científica; v. 4)

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-85-7247-111-4
DOI 10.22533/at.ed.114191102

1. Ciência – Brasil. 2. Pesquisa – Metodologia. I. Melero, Anna
Maria Gouvea de Souza. II. Série.

CDD 001.42

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de
responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos
autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

A obra “Premissas da Iniciação científica” aborda diferentes maneiras em que o conhecimento pode ser aplicado, e que outrora era exclusivamente uma transmissão oral de informação e atualmente se faz presente na busca e aplicação do conhecimento.

A facilidade em obter conhecimento, aliado com as iniciativas de universidades e instituições privadas e públicas em receber novas ideias fez com que maneiras inovadoras de introduzir a educação pudessem ser colocadas em prática, melhorando processos, gerando conhecimento específico e incentivando profissionais em formação para o mercado de trabalho.

Estudos voltados para o conhecimento da nossa realidade, visando a solução de problemas de áreas distintas passou a ser um dos principais desafios das universidades, utilizando a iniciação científica como um importantes recurso para a formação dos nossos estudantes, principalmente pelo ambiente interdisciplinar em que os projetos são desenvolvidos.

O conhecimento por ser uma ferramenta preciosa precisa ser bem trabalhado, e quando colocado em prática e principalmente avaliado, indivíduos de áreas distintas se unem para desenvolver projetos que resultem em soluções inteligentes, sustentáveis, financeiramente viáveis e muitas vezes inovadoras.

Nos volumes dessa obra é possível observar como a iniciação científica foi capaz de auxiliar o desenvolvimento de ideias que beneficiam a humanidade de maneira eficaz, seja no âmbito médico, legislativo e até ambiental. Uma ideia colocada em pratica pode fazer toda a diferença.

É dentro desta perspectiva que a iniciação científica, apresentada pela inserção de artigos científicos interdisciplinares, em que projetos de pesquisas, estudos relacionados com a sociedade, o direito colocado em prática e a informática ainda mais acessível deixa de ser algo do campo das ideias e passa a ser um instrumento valioso para aprimorar novos profissionais, bem como para estimular a formação de futuros pesquisadores.

Anna Maria G. Melero

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS DO CAPSÍDEO E NS3 DO ZIKA VÍRUS EM <i>ESCHERICHIA COLI</i>	
<i>Maria Lorena Bonfim Lima</i>	
<i>Ilana Carneiro Lisboa Magalhães</i>	
<i>Mario Alberto Maestre Herazo</i>	
<i>Lívia Érika Carlos Marques</i>	
<i>Eridan Orlando Pereira Tramontina Florean</i>	
<i>Maria Izabel Florindo Guedes</i>	
DOI 10.22533/at.ed.1141911021	
CAPÍTULO 2	9
FREQUÊNCIA DO USO DE ANDADORES INFANTIS NA CIDADE DE CURITIBA	
<i>Eliane Mara Cesário Pereira Maluf</i>	
<i>Paula Campos Seabra</i>	
<i>Letícia Regina Metzger</i>	
DOI 10.22533/at.ed.1141911022	
CAPÍTULO 3	23
HEURÍSTICA PARA ROTEAMENTO DE VEÍCULOS UTILIZANDO INFORMAÇÕES DE TRÁFEGO EM TEMPO REAL, APLICADO AO SERVIÇO DE ATENDIMENTO MÓVEL DE URGÊNCIA – SAMU	
<i>Roberval Gonçalves Moreira Filho</i>	
<i>Ísis Natália Chagas Costa Paiva</i>	
<i>Francisco Chagas de Lima Júnior</i>	
<i>Carlos Heitor Pereira Liberalino</i>	
DOI 10.22533/at.ed.1141911023	
CAPÍTULO 4	28
ANÁLISE DA GENOTOXICIDADE DE AGROTÓXICO UTILIZANDO O BIOENSAIO <i>ALLIUM CEPA</i> E O IMPACTO NA SAÚDE DO PRODUTOR RURAL	
<i>Angela Rafele Bezerra da Silva</i>	
<i>Thaísa Ályla Almeida e Sousa</i>	
<i>Regina Célia Pereira Marques</i>	
DOI 10.22533/at.ed.1141911024	
CAPÍTULO 5	38
LEVANTAMENTO ETNOBOTÂNICO DAS PLANTAS MEDICINAIS USADAS POR PACIENTES DO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE NA CIDADE DE ANÁPOLIS/GO, COM ÊNFASE NO BIOMA CERRADO	
<i>Eduardo Rosa da Silva</i>	
<i>Andréia Juliana Rodrigues Caldeira</i>	
<i>Danila Noronha Gonçalves</i>	
<i>Morganna da Silva Oliveira</i>	
DOI 10.22533/at.ed.1141911025	
CAPÍTULO 6	47
MORTALIDADE MATERNA NO BRASIL: UMA REVISÃO DE LITERATURA	
<i>Shamia Beatriz Andrade Nogueira</i>	
<i>Maralina Gomes da Silva</i>	
<i>Maria Luziene de Sousa Gomes</i>	
<i>Danielly de Carvalho Xavier</i>	
<i>Iolanda Gonçalves de Alencar Figueiredo</i>	
DOI 10.22533/at.ed.1141911026	

CAPÍTULO 7 54

O IMPACTO DA EDUCAÇÃO PERMANENTE EM SUPORTE BÁSICO DE PARADA CARDIORRESPIRATÓRIA A PROFISSIONAIS DE DUAS EQUIPES DE SAÚDE DA FAMÍLIA NO MUNICÍPIO DE ARAGUARI/MG

Andréia Gonçalves Dos Santos
Cleidiney Alves E Silva
Jéssica De Carvalho Antunes Barreira
Marislene Pulsena Da Cunha Nunes
Rosana De Cássia Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.1141911027

CAPÍTULO 8 62

O USO DO TEAM-BASED LEARNING COMO ESTRATÉGIA DE ENSINO DA POLÍTICA DE SAÚDE DO HOMEM NO CURSO DE ENFERMAGEM

Natália Ângela Oliveira Fontenele
Maria Aline Moreira Ximenes
Maria Girlane Sousa Albuquerque Brandão
Suzana Mara Cordeiro Eloia
Joselany Áfio Caetano
Lívia Moreira Barros

DOI 10.22533/at.ed.1141911028

CAPÍTULO 9 70

PARTO DOMICILIAR: BENEFÍCIOS E DESAFIOS DE UMA ASSISTÊNCIA HUMANIZADA

Nicole Oliveira Barbosa
Lorena da Silva Lima
Márcia Jaínne Campelo Chaves
Elane da Silva Barbosa
Amália Gonçalves Arruda

DOI 10.22533/at.ed.1141911029

CAPÍTULO 10 81

PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DA SÍFILIS CONGÊNITA NEONATAL EM UM HOSPITAL PÚBLICO DE CURITIBA

Flávia Andolfato Coelho da Silva Faust
Bruce Negrello Nakata
Cristina Terumy Okamoto

DOI 10.22533/at.ed.11419110210

CAPÍTULO 11 91

PERFIL SOCIODEMOGRÁFICO E CLÍNICO DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES HOSPITALIZADOS VÍTIMAS DE LESÕES NÃO INTENCIONAIS

Luciane Favero
Sonia Mara Casarotto Vieira
Anne Caroline de Oliveira
Rodrigo Napoli
Giovanna Batista Leite Veloso

DOI 10.22533/at.ed.11419110211

CAPÍTULO 12..... 104

PREVENÇÃO DE ACIDENTES EM CRIANÇAS: RECONHECENDO OS SINAIS DE RISCO DO RECÉM-NASCIDO EM UMA UNIDADE CANGURU

Daiana Rodrigues Cruz Lima
Fabiane do Amaral Gubert
Mariana cavacante Martins
Marielle Ribeiro Feitosa
Lidiane Nogueira Rebouças
Fortaleza - Ceará
Clarice da Silva Neves

DOI 10.22533/at.ed.11419110212

CAPÍTULO 13..... 109

PRODUÇÃO DE ASPARAGINASE BACTERIANA DE HELICOBACTER PYLORI, PROTEUS VULGARIS E WOLINELLA SUCCINOGENES EM SISTEMA DE EXPRESSÃO PROCARIOTO

Ilana Carneiro Lisboa Magalhães
Kalil Andrade Mubarak Romcy
Davi Almeida Freire
Lívia Érika Carlos Marques
Eridan Orlando Pereira Tramontina Florean
Maria Izabel Florindo Guedes

DOI 10.22533/at.ed.11419110213

CAPÍTULO 14..... 117

TIPOS DE INTERVENÇÕES EDUCATIVAS UTILIZADAS PARA PROMOÇÃO DA SAÚDE EM PACIENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO 2

Nádyá dos Santos Moura
Caroliny Gonçalves Rodrigues Meireles
Bárbara Brandão Lopes
João Joadson Duarte Teixeira
Maria Vilani Cavalcante Guedes
Mônica Oliveira Batista Oriá

DOI 10.22533/at.ed.11419110214

CAPÍTULO 15..... 125

TRANSVERSALIDADE ENTRE AS POLÍTICAS DE SAÚDE MENTAL E SAÚDE DA MULHER: UMA NOVA ABORDAGEM DA PESQUISA EM ENFERMAGEM

Iandra Rodrigues da Silva
Daria Catarina Silva Santos
Aline Barros de Oliveira
Damiana Teixeira Gomes
Valquíria Farias Bezerra Barbosa
Silvana Cavalcanti dos Santos

DOI 10.22533/at.ed.11419110215

CAPÍTULO 16..... 131

UM OLHAR SOBRE A SATISFAÇÃO PROFISSIONAL DOS FARMACÊUTICOS DA CIDADE DE ARAGUARI-MG

Laura Naves Oliveira
Paulo César aluno Batista
Leandro Pereira de Oliveira
Évora Mandim Ribeiro Naves

DOI 10.22533/at.ed.11419110216

CAPÍTULO 17 146

USO DE POLIPEPTÍDIO ELASTINA-LIKE PARA PURIFICAÇÃO DE PROTEÍNA NS1 DO VIRUS DENGUE EXPRESSA EM PLANTA

Livia Érika Carlos Marques

Kalil Andrade Mubarak Romcy

Ilana Carneiro Lisboa Magalhães

Maria Lorena Bonfim Lima

Eridan Orlando Pereira Tramontina Florean

Maria Izabel Florindo Guedes

DOI 10.22533/at.ed.11419110217

CAPÍTULO 18 153

USO DE PRÓTESE DENTÁRIA E SUA RELAÇÃO COM LESÕES BUCAIS

Thiago Fernando de Araújo Silva

Fabianna da Conceição Dantas de Medeiros

Kleitton Alves Ferreira

Jamile Marinho Bezerra de Oliveira Moura

Isabela Pinheiro Cavalcanti Lima

Eduardo José Guerra Seabra

DOI 10.22533/at.ed.11419110218

SOBRE A ORGANIZADORA 161

CAPÍTULO 1

EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS DO CAPSÍDEO E NS3 DO ZIKA VÍRUS EM *ESCHERICHIA COLI*

Maria Lorena Bonfim Lima

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular

Fortaleza - Ceará

Ilana Carneiro Lisboa Magalhães

Universidade Estadual do Ceará

Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO)

Fortaleza - Ceará

Mario Alberto Maestre Herazo

Universidade Federal do Ceará

Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO)

Fortaleza - Ceará

Lívia Érika Carlos Marques

Universidade Estadual do Ceará

Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO)

Fortaleza - Ceará

Eridan Orlando Pereira Tramontina Florean,

Universidade Estadual do Ceará

Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO)

Fortaleza - Ceará

Maria Izabel Florindo Guedes,

Universidade Estadual do Ceará

Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO)

Fortaleza - Ceará

Federados da Micronésia sendo confundida com o vírus dengue (DENV), uma vez que os testes diagnósticos da época comprovaram IgM positivo para o DENV. Porém, os sintomas apresentavam-se diferentes dos usuais e somente após análises por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) realizadas pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) o ZIKV foi confirmado. No Brasil, a doença ganhou notabilidade nos anos de 2014 e 2015 com o aumento de casos de microcefalia, além de casos de distúrbios neurológicos e Síndrome de Guillain-Barré. Neste trabalho foram realizadas clonagens e expressão dos genes que codificam as proteínas do capsídeo (C) e não estrutural 3 (NS3) do Zika vírus em linhagens de *E. coli*. Para a multiplicação do inserto os plasmídeos recombinantes foram transformados em *E. coli* BL21, seguido de sua indução com diferentes concentrações de IPTG e temperatura para a análise da expressão das proteínas por SDS-PAGE e *Western Blotting*. Os resultados se mostraram satisfatórios com a produção da proteína de maneira igualitária nas três diferentes concentrações de IPTG e temperatura testadas. Ambas as proteínas C e NS3 foram expressas no tamanho esperado de aproximadamente 19,1 kDa e 56,7 kDa, respectivamente. Tais resultados, ampliam a disponibilidade de antígenos para serem utilizados na composição de vacinas e em

RESUMO: O Zika vírus (ZIKV) é um arbovírus da família *Flaviviridae*, oriundo da Floresta de Zika, na Uganda. O primeiro surto da doença deu-se em 2007 na Ilha de Yap, nos Estados

testes diagnósticos contra o Zika vírus no mercado brasileiro.

PALAVRAS-CHAVE: Zika vírus. Microcefalia. Proteína Recombinante. Capsídeo. NS3.

ABSTRACT: Zika virus (ZIKV) is an arbovirus of the Flaviviridae family, from the Zika Forest in Uganda. The first outbreak of the disease occurred in Yap Island, Federated States of Micronesia, where it was confused with Dengue virus (DENV), since diagnostic tests at the time proved IgM positive for DENV. However, the symptoms were different from the usual ones and only after the analysis by Polymerase Chain Reaction (PCR) carried out by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) ZIKV was confirmed. In Brazil, the disease increased in the years 2014 and 2015 with the increased cases of microcephaly, in addition to cases of neurological disorders and Guillain-Barré syndrome. In this work, cloning and expression of the genes coding for capsid (C) and non-structural 3 (NS3) proteins of Zika virus were carried out in *E. coli* strains. For the multiplication of the insert the recombinant plasmids were transformed into *E. coli* BL21, followed by their induction with different concentrations of IPTG and temperature for the analysis of the expression of the proteins by SDS-PAGE and Western Blotting. The results were satisfactory with protein production equally in the three different concentrations of IPTG and temperature tested. Both the C and NS3 proteins were expressed in the expected size of approximately 19.1 kDa and 56.7 kDa, respectively. These results increase the availability of antigens to be used in the composition of vaccines and in diagnostic tests against the Zika virus in the Brazilian market.

KEYWORDS: Zika virus. Microcephaly. Recombinant Protein. Capsid. NS3.

1 | INTRODUÇÃO

O Zika Vírus (ZIKV) é um arbovírus da família *Flaviviridae* isolado primariamente do macaco rhesus na floresta do Zika, na Uganda, em 1947, onde até este período outros filtrados virais foram isolados na mesma localidade (DICK et al, 1952). Até o primeiro surto da virose, apenas 14 casos de infecções por este vírus foram relatados, nenhum ultrapassou as barreiras dos continentes asiático e africano (DUFFY, 2009).

Nos meses de abril e maio de 2007, notou-se na Ilha de Yap, nos Estados Federados da Micronésia, um surto de doença viral caracterizada por erupções cutâneas, conjuntivite, febre leve, artralgia e artrite (HAYES, 2009). Testes com kits diagnóstico comprovaram IgM positivo para Dengue, entretanto os sintomas se mostravam diferentes dos já observados nesta doença. Com isso, foi enviado soro de pacientes para o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) e a partir de análises por PCR alguns resultados se mostraram positivos para Zika vírus (DURAND, 2005). Os sintomas principais dessa virose são artralgia, edema das extremidades, febre moderada, dores de cabeça, dor retro-orbital, conjuntivite não purulenta, vertigo,

mialgia, distúrbios digestivos e pequenas erupções maculopapulares (ZANLUCA *et al*, 2015).

Entretanto, o maior surto do Zika vírus deu-se em 2013, onde cerca de 11% da população da Polinésia Francesa mostrou-se com os sintomas da doença e com estreita relação com complicações neurológicas como a Síndrome de Guillain-Barré, microcefalia e doenças autoimunes, como púrpura trombocitopênica e leucopenia (MUSSO *et al*, 2015; AMORIM, BICALHO e ZAULI, 2016). No Brasil a doença começou a ganhar notabilidade nos anos de 2014 e 2015 quando o número de crianças com microcefalia aumentou de 150 a 200 casos para 1.248 casos suspeitos (BRASIL, 2015), além de 121 casos de distúrbios neurológicos e Síndrome de Guillain-Barré (ECDPC, 2015).

A transmissão do Zika vírus dá-se principalmente por meio da picada de mosquitos do gênero *Aedes*. Estudos já comprovam a transmissão intrauterina (mãe para feto) e através do contato físico (sangue, saliva e transmissão sexual) e mais recentemente foram encontradas partículas virais na urina (HASTINGS; FIKRING, 2017).

O diagnóstico da doença é através da extração de RNA viral da amostra do paciente e RT-PCR como ferramenta de rápida detecção de infecção viral em amostras de fase aguda, em um período de 4 a 7 dias após o início dos sintomas. Além disso, apenas uma em cada cinco pessoas infectadas é sintomática (AMORIM; BICALHO; ZAULI, 2016). Desta forma, a amostra é testada para diferentes arbovírus, dentre eles Dengue e Chikungunya, através do teste de ELISA para a detecção de anticorpos IgM/IgG específicos contra o ZIKV com cinco a seis dias após o aparecimento dos sintomas (ZANLUCA *et al.*, 2015). As amostras para a detecção do vírus são diversas e vão desde sangue, até líquido amniótico, sêmen, urina e salivares.

Até o momento não há vacina disponível, bem como um tratamento específico para a Febre por Zika vírus, apenas o controle da febre e da dor através de medicamentos. A atual forma de prevenção é a partir da proteção pessoal contra o mosquito também transmissor da dengue e do Chikungunya (ECDPC, 2015).

Por este motivo, faz-se necessária a produção de proteínas recombinantes que podem ser utilizadas no desenvolvimento de antivirais, na produção de uma vacina contra ZIKV e como reagente para a fabricação de kits diagnóstico precisos e acessíveis à população. Neste âmbito, a plataforma de produção de proteínas em sistema procarioto tem se mostrado adequada na produção de proteínas para aplicações clínicas e industriais e com o avanço da biotecnologia é possível produzir diferentes proteínas recombinantes em quantidades desejáveis (CHOI *et al*, 2006). Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi a clonagem e expressão das proteínas do Capsídeo (C) e Não Estrutural 3 (NS3) do Zika vírus em *Escherichia coli* visando a fabricação de anticorpos que possam ser utilizados na composição de uma vacina e elaboração de kits de diagnóstico.

2 | METODOLOGIA

Foi realizada uma pesquisa intensa em bancos de dados como NCBI acerca das sequências das proteínas do ZIKV circulantes no nordeste brasileiro. Com base no artigo de Calvet *et al* (2016), onde foi disponibilizado no Genbank a sequência das proteínas do ZIKV circulante no Brasil, foram selecionadas as sequências do ZIKV com o número de acesso KU497555 (Genbank), o qual foi extraído a partir do líquido amniótico de mulheres grávidas.

O genoma viral completo possui 10.793 nucleotídeos e deste foram retiradas as sequências codificadoras para a proteína estrutural do capsídeo (C) e proteína não estrutural 3 (NS3). Às sequências, foi adicionada uma cauda de poli Histidina que auxilia no método de purificação por cromatografia de afinidade pelo íon Ni²⁺ (PORATH e OLIN, 1983).

As sequências do ZIKV foram, então, sintetizadas (*BioBasic Gene Syntesis*) e otimizadas para a expressão em *E. coli*. Os insertos, clonados previamente no plasmídeo “delivery” pUC57 (GenBank: Y14837.1) com resistência ao antibiótico Ampicilina, foram digeridos e ligados ao vetor pET-28a, com resistência ao antibiótico Canamicina. Para todos os procedimentos foram utilizadas técnicas de biologia molecular padrões.

Após o processo de ligação dos insertos no plasmídeo pET28a, os mesmos foram clonados em cepas de *E. coli* BL21 (DE3) e BL21 *Rosetta*, respectivamente (Figura 1). Primeiramente foram realizados testes em pequena escala, onde as bactérias transformadas foram induzidas em 10mL de meio LB (Luria-Bertani) com antibiótico Canamicina para crescimento por 1 hora e 30 minutos sob agitação de 240 rpm. Após o período de crescimento, as bactérias foram submetidas a diferentes concentrações de Isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside (IPTG), reagente molecular cujo mecanismo de ação se dá a partir da indução da transcrição de genes da região *lac operon* do plasmídeo celular.

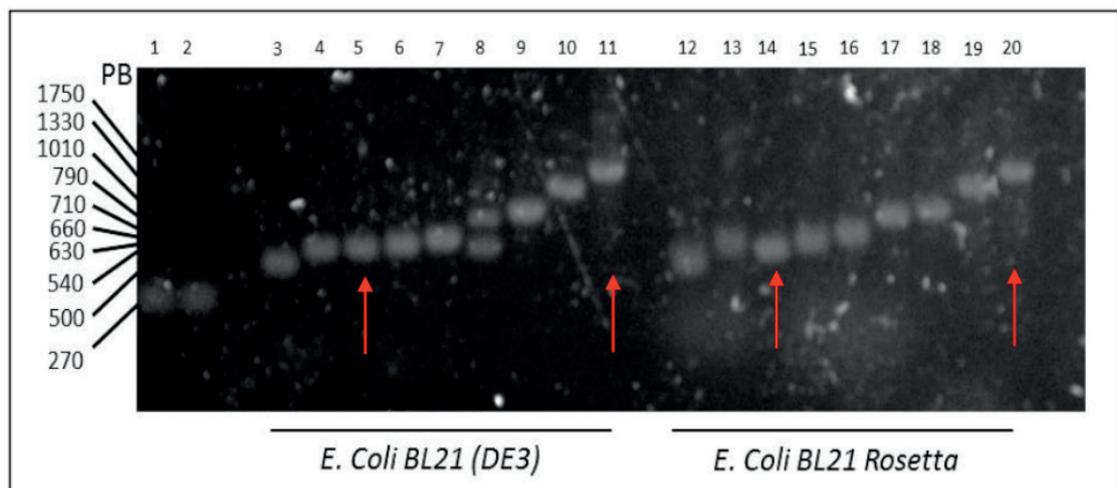


Figura 1 - Gel de agarose 1% mostrando a clonagem do pET-28a com insertos em *E. coli* BL21 (DE3) e *Rosetta*. Setas indicando nas linhas 5 e 14 mostrando a clonagem do inserto codificante para a proteína do capsídeo em *E. coli* BL21 (DE3) e linhas 11 e 20 mostrando a

As células foram testadas em diferentes concentrações de IPTG (0,1 mM, 0,5 mM e 1mM) e temperaturas de 20 °C, 28 °C e 37 °C por um período de 3 horas e então lisadas utilizando 20 mM de Tris-HCl (pH=8,0), 200 mM de NaCl mM, 2 mM de Fluoreto de Fenilmetilsulfonil (PMSF) e 0,2 mg/mL de Lisozima (ALVES, 2008). Após a lise bacteriana por choque térmico para a extração das proteínas totais, as mesmas foram solubilizadas e purificadas utilizando Kit de Purificação Protino® Ni-TED 2000 Packed Columns, seguindo as instruções do fabricante. A detecção das proteínas recombinantes C e NS3 do ZIKV por *Western Blotting* foi feita utilizando anticorpo monoclonal anti-His6 (1:3000) e Anti-IgG de camundongo conjugado a peroxidase (1:5000).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Certas proteínas do Zika vírus vêm sendo estudadas (LEI et al, 2016) para melhor compreensão de suas funções a fim de se produzir kits de diagnóstico de melhor especificidade e futuramente uma vacina (SONG, 2016).

Neste trabalho, as sequências foram clonadas eficientemente em *E. coli*, cepas DH10B para a multiplicação do plasmídeo, BL21 (DE3) e BL21 *Rosetta* para a expressão dos mesmos. Todas as clonagens foram confirmadas por PCR e gel de agarose a 1% e os insertos apresentaram os tamanhos esperados, 351 pb para a proteína do capsídeo e 1598 pb para a NS3.

Ambas as proteína do Capsídeo e proteína NS3, foram expressadas de forma eficientes em todas as concentrações de IPTG e nas diferentes temperaturas testadas, sendo o IPTG na concentração de 0,5 mM e temperatura de 37 °C as condições de escolha para a produções de tais proteínas. Conforme os resultados obtidos a proteína C teve os maiores níveis de expressão em BL21 (DE3) e a proteína NS3 em BL21 *Rosetta*.

Cada proteína expressa foi analisada por SDS-Page a 12%, utilizando amostras de precipitado e sobrenadante para verificação da solubilidade das proteínas. Observou-se a produção das proteínas C (Figura 2) e NS3 (Figura 3) em todas as concentrações testadas, revelando a presença das proteínas de aproximadamente 19,1 kDa e 56,7 kDa, respectivamente, confirmadas pelo padrão de reatividade do anticorpo anti-His6. De acordo com os protocolos utilizados, os resultados mostraram a proteína produzida na forma insolúvel, encontrando-se no pellet. Contudo, testes para sua solubilização estão sendo avaliados.

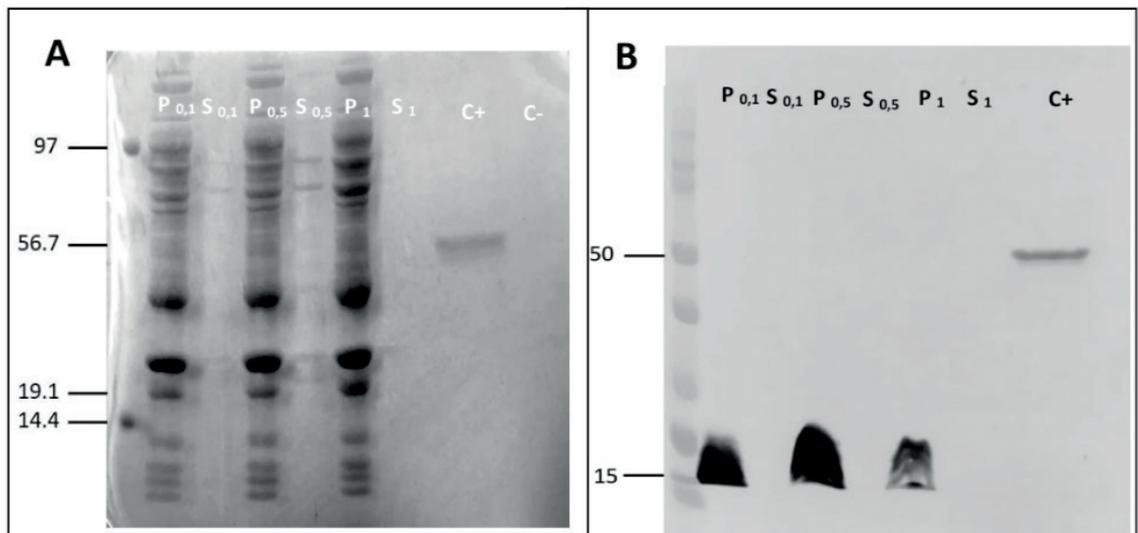


Figura 2 - Perfil eletroforético da proteína Capsídeo em SDS-Page e Western Blot. A: Perfil eletroforético da Proteína do Capsídeo em *E. coli* BL21 (DE3) em SDS-PAGE a 12% em três diferentes concentrações de IPTG P0,1 (Pellet com indução a 0,1mM); S0,1 (Sobrenadante com indução a 0,1mM); P0,5 (Pellet com indução a 0,5mM); S0,5 (Sobrenadante com indução a 0,5mM); P1 (Pellet com indução a 1mM); S1 (Sobrenadante com indução a 1mM); C- (Controle negativo – *E. coli* induzida sem inserto); C+ (Controle positivo). B: Western Blot das mesmas amostras.

Fonte: Elaborada pelo autor

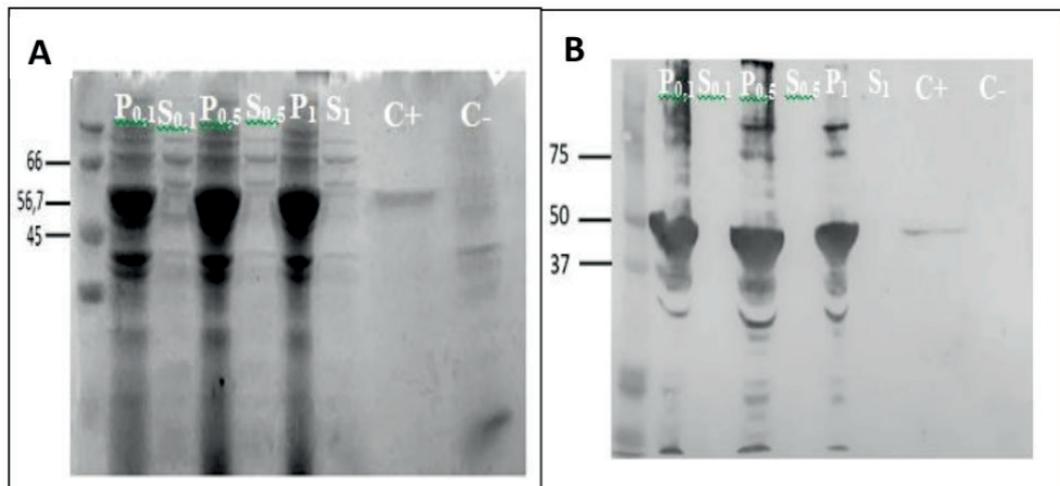


Figura 3 - Perfil eletroforético da proteína NS3 em SDS-Page e Western Blott. A: Perfil eletroforético da indução da Proteína NS3 em *E. coli* BL21 Rosetta em SDS-PAGE a 12% em três diferentes concentrações de IPTG P0,1 (Pellet com indução a 0,1mM); S0,1 (Sobrenadante com indução a 0,1mM); P0,5 (Pellet com indução a 0,5mM); S0,5 (Sobrenadante com indução a 0,5mM); P1 (Pellet com indução a 1mM); S1 (Sobrenadante com indução a 1mM); C+ (Controle positivo); C- (Controle negativo -*E. coli* induzida sem inserto). B: Western Blott das mesmas amostras.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os resultados apresentados aqui mostram que ambas as proteínas do ZIKV podem ser produzidas com sucesso em sistema procaríoto, e corroboram com outros trabalhos relatando a expressão e análise de determinadas proteínas do ZIKV, como mostrados por Lei, *et al* (2016), Mossenta, *et al* (2017), Song, *et al* (2016) e Coloma, *et al* (2016).

4 | CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho, até o momento, são bastante promissores na busca por antígenos que possam ser utilizados em diagnóstico mais rápido e eficaz para a Febre Zika, bem como na produção de uma vacina, sendo confirmada a produção das duas proteínas virais escolhidas no sistema procarioto. A continuidade deste trabalho será de fundamental importância para contribuir com o gerenciamento clínico, vigilância e investigação de surtos, e prevenir ou controlar epidemias de forma a atender às necessidades da população que necessita de cuidados básicos de saúde.

REFERÊNCIAS

ALVES, B. S. C. **Caracterização das Proteínas Humanas Mov34 e Pact** e análise da sua interação com o RNA do Vírus da Dengue. Tese (Doutorado) da Universidade Estadual de Campinas, 110 f. 2008.

AMORIM, E. G.; BICALHO, S. N.; ZAULI, D. **Boletim Técnico: Atualização e Diagnóstico Laboratorial da Febre por Zika Vírus**. Hermes Pardini, ano 4, n. 16, 2016.

CALVET, G.; *et al.* **Detection and Sequencing of Zika Virus from Amniotic Fluid of Fetuses with Microcephaly in Brazil: a case Study**. The Lancet, v. 16, 2016.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Advice for people living in or traveling to South Florida**. 2016. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/zika/intheus/florida-update.html>>. Acesso em: 19 jan. 2017.

CHOI, J. H.; KEUM, K. C.; LEE, S. Y. **Production of Recombinant Proteins by high cell density culture of *Escherichia coli***. Chemical Engineering Science, v. 61, p. 876-885, 2006.

COLOMA, J.; *et al.* **Structures of NS5 Methyltransferase from Zika Virus**. Cell Reports, v. 16, n. 12, p. 3097-3102, 2016.

DICK, G.W.A; KITCHEN, S.F; HADDOW, A.J. Zika Virus (I). Isolations and serological specificity. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 46, n. 5, p. 509-520, 1952.

DUFFY M. R.; *et al.* **Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia**. The New England Journal of Medicine, v. 360, p. 2536–2543, 2009.

DURAND M. A.; *et al.* **An outbreak of dengue fever in Yap State. Pacific Health Surveillance and Response**. Pacific Health Dialog v. 12, n. 2, p. 99-102, 2005.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. Rapid risk assessment. **Zika virus epidemic in the Americas: Potential Association with microcephaly and Guillain-Barré Syndrome** – Dec 2015.

LEI, J.; *et al.* **Crystal structure of Zika virus NS2B-NS3 protease in complex with a boronate inhibitor**. Science, v. 353, n. 6298, p.503-505, 2016.

MOSSENTA, M.; MARCHESI S.; POGGIANELLA M.; CAMPOS J. L. S.; BURRONE O. R. **Role of N-glycosylation on Zika virus E protein secretion, viral assembly and infectivity**. Biochemical and Biophysical Research Communications, v. 492, n. 4, p.579-586, 2017

MUSSO D.; *et al.* **Potential Sexual Transmission of Zika Virus.** Emerging Infectious Diseases, v. 21, n. 2, 2015.

PORATH, J.; OLIN, B. **Immobilized metal affinity adsorption and immobilized metal affinity chromatography of biomaterials. Serum protein affinities for gel-immobilized iron and nickel ions.** Biochemistry, v. 22, n. 7, p.1621-1630, 29 mar. 1983.

SONG, H.; *et al.* **Zika Virus NS1 Structure Reveals Diversity of Electrostatic Surfaces Among Flaviviruses.** Nature, Structural & Molecular Biology, v. 23, n. 5, 2016.

ZANLUCA C.; *et al.* **First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 110, p. 569–572, 2015.

SOBRE A ORGANIZADORA

Anna Maria Gouvea de Souza Melero - Possui graduação em Tecnologia em Saúde (Projeto, Manutenção e Operação de Equipamentos Médico-Hospitalares), pela Faculdade de Tecnologia de Sorocaba (FATEC-SO), mestrado em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), doutoranda em Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de Ouro Preto. Atualmente é Integrante do Grupo de Pesquisa em Materiais Lignocelulósicos (GPML) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) Campus Sorocaba e pesquisadora colaboradora do Laboratório de Biomateriais LABIOMAT, da Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (Campus Sorocaba). Atua nas áreas de Polímeros, Biomateriais, Nanotecnologia, Nanotoxicologia, Mutagenicidade, Biotecnologia, Citopatologia e ensaios de biocompatibilidade e regeneração tecidual, além de conhecimento em Materiais Lignocelulósicos.

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-111-4

