



Premissas da Iniciação Científica 3

Atena
Editora

2019

Anna Maria Gouvea
de Souza Melero
(Organizadora)

Anna Maria Gouvea de Souza Melero
(Organizadora)

Premissas da Iniciação Científica

3

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 3 [recurso eletrônico] /
Organizadora Anna Maria Gouvea de Souza Melero. – Ponta
Grossa (PR): Atena Editora, 2019. – (Premissas da Iniciação
Científica; v. 3)

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-85-7247-110-7
DOI 10.22533/at.ed.107191102

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
A POESIA DA VIDA REAL: REALIDADE DE PESSOAS EM SITUAÇÃO DE RUA REPRESENTADAS PELA LITERATURA DE CORDEL	
<i>Maria Aline Moreira Ximenes</i>	
<i>Josiane da Silva Gomes</i>	
<i>Maria Girlane Sousa Albuquerque Brandão</i>	
<i>Natália Ângela Oliveira Fontenele</i>	
<i>Caroline Ponte Aragão</i>	
<i>Lívia Moreira Barros</i>	
DOI 10.22533/at.ed.1071911021	
CAPÍTULO 2	13
ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO: FATORES DE RISCO DE PACIENTES ATENDIDOS NA EMERGÊNCIA DE UM HOSPITAL DE ENSINO	
<i>Maria Girlane Sousa Albuquerque Brandão</i>	
<i>Cristina da Silva Fernandes</i>	
<i>Aline Maria Veras Mendes</i>	
<i>Odézio Damasceno Brito</i>	
<i>Maria Aline Moreira Ximenes</i>	
<i>Lívia Moreira Barros</i>	
DOI 10.22533/at.ed.1071911022	
CAPÍTULO 3	23
AÇÕES DE CONTROLE DA DENGUE NA ATENÇÃO PRIMÁRIA A SAÚDE	
<i>Anne Lívia Cavalcante Mota</i>	
<i>Letícia Pereira Araújo</i>	
<i>Daniel Matos de Sousa</i>	
<i>Débora de Araújo Moura</i>	
<i>Walquirya Maria Pimentel Santos Lopes</i>	
DOI 10.22533/at.ed.1071911023	
CAPÍTULO 4	31
ANÁLISE DO PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DOS PACIENTES COM COQUELUCHE INTERNADOS NA UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA DO HOSPITAL PEQUENO PRÍNCIPE EM 2013	
<i>Giovana Paludo</i>	
<i>Bruna Romanelli</i>	
<i>Silvia de Almeida Stocco da Silva</i>	
<i>Lucas de Souza Rodrigues dos Santos</i>	
<i>Paulo Ramos David João</i>	
<i>Darci Vieira da Silva Bonetto</i>	
DOI 10.22533/at.ed.1071911024	
CAPÍTULO 5	36
ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DA MORTALIDADE POR NEOPLASIAS NO BRASIL	
<i>Natalia Regina dos Santos Soares</i>	
<i>Benigno Alberto de Moraes da Rocha</i>	
DOI 10.22533/at.ed.1071911025	

CAPÍTULO 6 45

ANÁLISE PROTEÔMICA DIFERENCIAL DE PROTEÍNAS DE FÍGADO DE RATOS COM OBESIDADE EXPERIMENTAL E AS ASSOCIAÇÕES COM O DIABETES TIPO II

Bruna Kaline Gorgônio de Azevedo

Francisco Barros Barbosa

José Hélio de Araújo Filho

Thiago Fernandes Martins

João Xavier da Silva Neto

DOI 10.22533/at.ed.1071911026

CAPÍTULO 7 52

ASPECTOS SOCIOECONÔMICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DOS PACIENTES COM ÚLCERAS VENOSAS EM UNIDADES BÁSICAS DE SAÚDE DA FAMÍLIA DA ZONA LESTE DO MUNICÍPIO DE MOSSORÓ

Érica Larissa Ferreira Barreto

Francisca Patrícia Barreto de Carvalho

Amélia Carolina Lopes Fernandes

Francisco Rafael Ribeiro Soares

Lucídio Clebeson de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.1071911027

CAPÍTULO 8 59

AVALIAÇÃO AGUDA DO POTENCIAL HIPOGLICÊMICO DE EXTRATOS ORIUNDOS DAS FOLHAS DE LICANIA RIGIDA BENTH EM RATOS WISTAR NORMAIS

Thiago Fernandes Martins

José Hélio de Araújo Filho

Daniel de Medeiros Veras

Carla Michele Pereira de Souza

João Xavier da Silva Neto

Daria Raquel Queiroz de Almeida

Bruna Kaline Gorgônio de Azevedo

Francisco Barros Barbosa

DOI 10.22533/at.ed.1071911028

CAPÍTULO 9 66

AVALIAÇÃO DA UTILIDADE CLÍNICA DA TÉCNICA LABORATORIAL HIBRIDIZAÇÃO GENÔMICA COMPARATIVA ("CGH-ARRAY") NO DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE INABILIDADE INTELECTUAL

Adriane Gonçalves Menezes Choinski

Caroline Rakoski Ribas

Letícia Butzke Rodrigues

Salmo Raskin

DOI 10.22533/at.ed.1071911029

CAPÍTULO 10 77

AVALIAÇÃO DE INTERVENÇÃO EDUCATIVA SOBRE REANIMAÇÃO CARDIOPULMONAR ENTRE FUNCIONÁRIOS DE UMA INSTITUIÇÃO PRIVADA

Bárbara Brandão Lopes

Thaís Rodrigues Paula

João Joadson Duarte Teixeira

Anne Fayma Lopes Chaves

DOI 10.22533/at.ed.10719110210

CAPÍTULO 11..... 84

DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS DESTINADOS ÀS CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA

Andressa Fernanda Megliato dos Santos Mushashe

Dayane dos Santos

Francieli Coutinho

Raisa Suelen Lineve Anacleto

Telma Souza e Silva Gebara

Lígia Alves da Costa Cardoso

DOI 10.22533/at.ed.10719110211

CAPÍTULO 12..... 100

AValiação PROSPECTIVA E COMPARATIVA SOBRE ÍNDICE DE HÉRNIA INCISIONAIS COM O USO PROFILÁTICO DE TELA DE POLIPROPILENO APÓS CIRURGIA BARIÁTRICA

Luiza da Costa Bichinho

Carolina Farran Fiandanese

Maurício Chibata

DOI 10.22533/at.ed.10719110212

CAPÍTULO 13..... 113

BENEFÍCIOS DA HIDROTERAPIA EM MULHERES DURANTE O PERÍODO GRAVÍDICO

Heidy Priscilla Velôso

Victorugo Guedes Alencar Correia

Fabiana Castro Ramos

Xisto Sena Passos

DOI 10.22533/at.ed.10719110213

CAPÍTULO 14..... 125

CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO COMPARATIVA IN VITRO DE DOIS ADESIVOS DENTINÁRIOS: SINGLE BOND (3M) E TECH BOND (TECHNEW)

Mikaele Garcia de Medeiros

Isabela Pinheiro Cavalcanti Lima

DOI 10.22533/at.ed.10719110214

CAPÍTULO 15..... 134

CLONAGEM DO GENE CORE DO VÍRUS DA HEPATITE C EM VETORES BINÁRIOS PARA DIRECIONAMENTO A DIFERENTES COMPARTIMENTOS DA CÉLULA VEGETAL

Arnaldo Solheiro Bezerra

Bruno Bezerra da Silva

Lucelina da Silva Araújo

Eduarda Nattaly Ferreira Nobre Santos

Eridan Orlando Pereira Tramontina Florean

Maria Izabel Florindo Guedes

DOI 10.22533/at.ed.1071911021315

CAPÍTULO 16..... 140

COMUNICAÇÃO HUMANIZADA NA MEDICINA POR MEIO DA LÍNGUA BRASILEIRA DE SINAIS: UMA ANÁLISE REFLEXIVA DOS DESAFIOS PARA A CRIAÇÃO DO VÍNCULO MÉDICO-PACIENTE

Ana Marcella Cunha Paes

Ana Clara Gomes Ribeiro

Ana Paula Rocha Vinhal

Laurice Mendonça da Silveira

DOI 10.22533/at.ed.1071911021316

CAPÍTULO 17	147
DESAFIOS PARA A IMPLEMENTAÇÃO DAS AÇÕES DE SAÚDE MENTAL NA ATENÇÃO PRIMÁRIA ATRAVÉS DA ESTRATÉGIA SAÚDE DA FAMÍLIA: REVISÃO INTEGRATIVA DA LITERATURA	
<i>Aline Barros de Oliveira</i>	
<i>Dária Catarina Silva Santos</i>	
<i>Iandra Rodrigues da Silva</i>	
<i>Leonardo Silva da Costa</i>	
<i>Robervam de Moura Pedroza</i>	
<i>Valquiria Farias Bezerra Barbosa</i>	
DOI 10.22533/at.ed.1071911021317	
CAPÍTULO 18	158
EFEITO PROFILÁTICO DA ATORVASTATINA NA OSTEONECROSE DE MAXILARES INDUZIDA POR BISFOSFONATOS EM RATOS WISTAR	
<i>Vanessa Costa Sousa</i>	
<i>Fátima Regina Nunes de Sousa</i>	
<i>Paula Goes Pinheiro Dutra</i>	
DOI 10.22533/at.ed.1071911021318	
CAPÍTULO 19	168
ESTRESSE DA EQUIPE DE ENFERMAGEM NO SERVIÇO DE PRONTO ATENDIMENTO DE UM HOSPITAL PÚBLICO	
<i>Danielle Alves Falcão</i>	
<i>Joana Carolina da Silva Pimentel</i>	
<i>Rayllynny dos Santos Rocha</i>	
<i>Renata Kelly dos Santos e Silva</i>	
<i>Bruno Henrique de Sousa Oliveira</i>	
<i>Francisco Gilberto Fernandes Pereira</i>	
DOI 10.22533/at.ed.1071911021319	
CAPÍTULO 20	177
ESTUDO DA INCIDÊNCIA DE ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO E ÓBITOS EM CAICÓ - RN	
<i>Pablo de Castro Santos</i>	
<i>Fernando Dantas Ferreira</i>	
<i>Maria Victor do Nascimento</i>	
DOI 10.22533/at.ed.1071911021320	
SOBRE A ORGANIZADORA	183

CLONAGEM DO GENE CORE DO VÍRUS DA HEPATITE C EM VETORES BINÁRIOS PARA DIRECIONAMENTO A DIFERENTES COMPARTIMENTOS DA CÉLULA VEGETAL

Arnaldo Solheiro Bezerra

Universidade Estadual do Ceará – Ceará

Bruno Bezerra da Silva

Universidade Estadual do Ceará – Ceará

Lucelina da Silva Araújo

Universidade Estadual do Ceará – Ceará

Eduarda Nattaly Ferreira Nobre Santos

Universidade Estadual do Ceará – Ceará

Eridan Orlando Pereira Tramontina Florean

Universidade Estadual do Ceará – Ceará

Maria Izabel Florindo Guedes

Universidade Estadual do Ceará – Ceará

RESUMO: O vírus da Hepatite C (HCV) causa doença de caráter agudo ou crônico, responsável pela morte de aproximadamente 400 mil indivíduos ao ano. O diagnóstico tardio é um dos principais obstáculos ao tratamento da hepatite C, demandando o desenvolvimento de kits de diagnóstico simples, acessíveis e seguros. A produção de proteínas recombinantes em plantas surge como ferramenta para a produção desses kits, mas estratégias de otimização são necessárias para a obtenção de níveis ótimos das proteínas de interesse. O objetivo do trabalho foi clonar o gene codificante para a proteína do Core do HCV em vetores binários com direcionamento para diferentes compartimentos da célula vegetal. A sequência codificante foi otimizada e sintetizada, sendo posteriormente

recombinada por meio do sistema Gateway de um plasmídeo de clonagem para diferentes plasmídeos de expressão, com direcionamento para os seguintes compartimentos celulares: apoplasto, cloroplasto, vacuolo, citosol e retículo endoplasmático. Os plasmídeos resultantes da recombinação foram transformados em *Escherichia coli* DH10b para posterior confirmação da clonagem por PCR sobre colônias. O presente trabalho clonou de forma bem-sucedida a proteína Core do HCV em plasmídeos com diferentes direcionamentos na célula vegetal. Abrem-se assim, novas possibilidades de otimização da produção da proteína de interesse em planta, viabilizando o seu uso para a produção de kits de diagnóstico para a hepatite C.

PALAVRAS-CHAVE: Hepatite C, Direcionamento celular, Plataforma Vegetal, Clonagem Molecular.

ABSTRACT: Hepatitis C virus (HCV) is responsible for the death of approximately 400,000 individuals per year. Late diagnosis is one of the main obstacles to the treatment of hepatitis C, requiring the development of simple, accessible and safe diagnostic kits. The production of recombinant proteins in plants appears as a tool for the production of these kits. Optimization strategies are required to obtain optimum levels of the proteins of interest.

This work aimed to clone the gene coding for the HCV Core protein in binary vectors targeting different compartments of the plant cell. The coding sequence was optimized, synthesized and subsequently recombined using the Gateway system. Expression vectors targeting the following cellular compartments: apoplast, chloroplast, vacuole, cytosol and endoplasmic reticulum were used. Plasmids resulting from recombination were transformed into *Escherichia coli* DH10b and further evaluated by colony PCR. The present work successfully cloned the HCV Core protein in plasmids with different directions in the plant cell. This opens new possibilities for optimizing the production of the protein of interest in the plant, making possible its use for the production of diagnostic kits for hepatitis C.

KEYWORDS: Hepatitis C, Cell Targeting, Plant Shelf, Molecular Cloning.

1 | INTRODUÇÃO

A Hepatite C é uma doença de caráter agudo ou crônico e que acomete globalmente 71 milhões de pessoas. Por ser assintomática na forma crônica, muitos indivíduos só são diagnosticados em estágios avançados da doença, após o desenvolvimento de cirrose ou câncer hepático, resultando no óbito de aproximadamente 400 mil pessoas por ano (WHO, 2017).

O agente etiológico da doença é o vírus da Hepatite C (HCV), um vírus envelopado, de RNA de senso positivo e que se apresenta sob a forma de 6 genótipos diferentes. O RNA viral é composto por aproximadamente 9400 pares de base e apresenta genoma constituído por três proteínas estruturais (core, E1, E2) e sete não-estruturais (p7, NS2-NS5B). Uma característica importante nesse vírus é a sua alta variabilidade e capacidade de adaptação, possibilitando que este burle a resposta imunológica do hospedeiro (SIMMONDS, 2014).

A World Health Organization (2017) apresenta como meta, reduzir até 2030 o percentual de portadores crônicos não diagnosticados dos atuais 80 % para 10 %, demandando o desenvolvimento de kits para diagnóstico simples, portáteis e de baixo custo. O diagnóstico precoce e o desenvolvimento de vacinas para grupos de risco (usuários de drogas injetáveis, prisioneiros, profissionais de saúde) possibilitaria a redução dos altos custos terapêuticos da doença (WHO, 2017).

A produção de proteínas recombinantes em planta surge como alternativa aos métodos tradicionais para a produção simples, segura e de baixo custo de proteínas candidatas vacinais assim como de aplicação em testes de imunodiagnóstico (TSCHOFEN, *et. al* 2016)

Dentro desse sistema de produção, diferentes estratégias tem sido empregadas como forma de melhorar o rendimento e a estabilidade das proteínas produzidas. O direcionamento celular da proteína de interesse a organelas específicas é uma forma de favorecer sua produção e acúmulo em ambientes bioquimicamente distintos

(TSCHOFEN, *et. al* 2016; VIEGAS, OCAMPO, PETRUCCELLI, 2017).

O presente trabalho apresentou como objetivo portanto, a clonagem molecular do gene codificante para a proteína do Core do HCV em vetores binários com direcionamento para diferentes compartimentos da célula vegetal.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

A sequencia codificante para o gene do Core foi obtida a partir da base de dados GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) e sintetizada pela empresa BioBasic (Ontario, Canadá). A sequencia foi construída de forma a tornar o plasmídeo vetor apto ao sistema de clonagem Gateway®.

Visando o direcionamento a diferentes compartimentos da célula vegetal, o gene de interesse foi recombinado em 5 versões do mesmo vetor de expressão, cada uma destas codificando sinalização para um dos seguintes compartimentos celulares: a) retículo endoplasmático; b) vacúolo; c) apoplasto; d) cloroplasto; e) citosol.

Para tanto, 100 ng do plasmídeo de clonagem foram utilizados para cada reação de recombinação utilizando a enzima LR Clonase (Gateway LR Clonase II Enzyme mix, Invitrogen), juntamente com 100 ng de cada um dos cinco vetores binários. As reações foram incubadas à temperatura ambiente por 1 hora e inativados por incubação a 37 °C com a enzima Proteinase K, conforme orientação do fabricante.

Todo o volume da reação de recombinação foi então empregado para transformar células de *Escherichia coli* DH10b. Brevemente, cada alíquota de célula competente foi descongelada em gelo e então adicionada a cada produto de recombinação. Para o choque térmico, cada alíquota foi incubada a 37 °C por 90 segundos, seguida novamente de incubação em gelo. Após esse processo, as células foram transferidas para 200 uL de meio de cultura LB e então incubadas a 37 °C por 1 hora sob agitação de 240 rpm. As culturas obtidas foram então aplicadas em placas de Petri com LB Ágar adicionado do antibiótico de seleção e mantidas a 37 °C *overnight*.

Das colônias obtidas em cada placa, três foram selecionadas para confirmação do processo de clonagem utilizando a técnica de PCR. Para isso, cada uma das colônias foi inoculada e homogeneizada em 20 µL de água ultrapura estéril. A reação de PCR continha concentração final de 0,2 µM de cada primer, 200 µM de dNTPs, 2 mM de MgCl₂ e uma unidade de Taq DNA Polimerase (GoTaq® Flexi DNA Polymerase, Promega) diluída no tampão de reação do fabricante. A cada reação foi adicionado 1,0 µL da colônia diluída em água estéril ou somente água (controle negativo). A amplificação do material seguiu a seguinte programação: 95 °C por 15 minutos, seguido de 35 ciclos (95 °C – 30” / 60 °C – 60” / 72 °C – 60”) e extensão final de 72 °C por 10 minutos.

Os produtos de amplificação foram em seguida submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1% e então corados (SYBR Safe DNA Gel Stain, Invitrogen) para sua

visualização sob luz ultravioleta e fotodocumentação.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 1, são mostradas as placas de Petri em que as colônias transformadas, agora contendo o gene de resistência ao antibiótico de seleção, cresceram após o período de incubação.

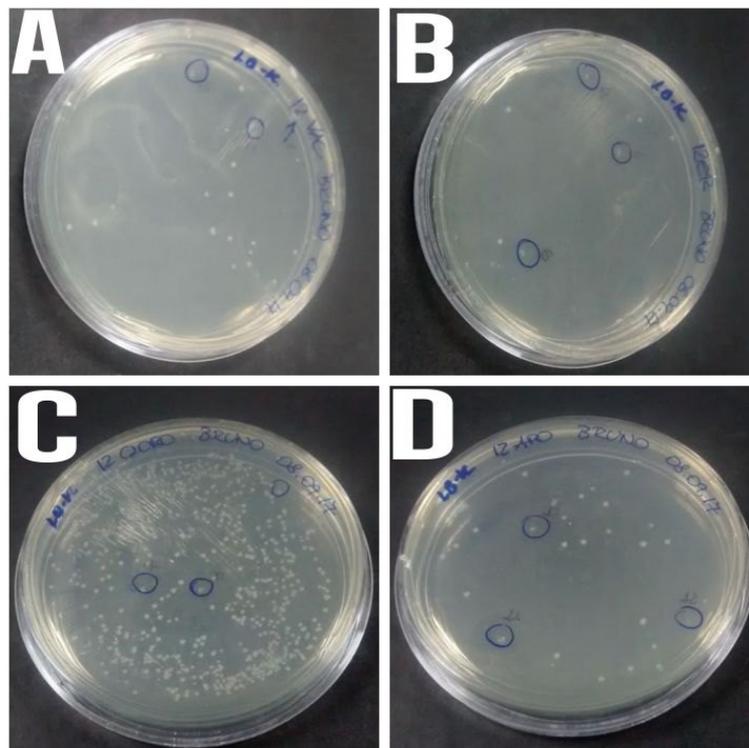


Figura 1: Placas com bactérias transformadas sendo A, B, C e D com insertos de direcionamento para o Vacúolo, Retículo Endoplasmático, Cloroplasto e Apoplasto respectivamente.

Fonte: Autores

Devido a possibilidade de ocorrência de falso positivos, prosseguiu-se com a seleção de três colônias aleatórias de cada placa para análise por meio de PCR e eletroforese em gel de agarose. Como pode ser visualizado na figura 2, todas as colônias mostraram-se positivas pela amplificação de fragmentos de aproximadamente 700 pb.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17

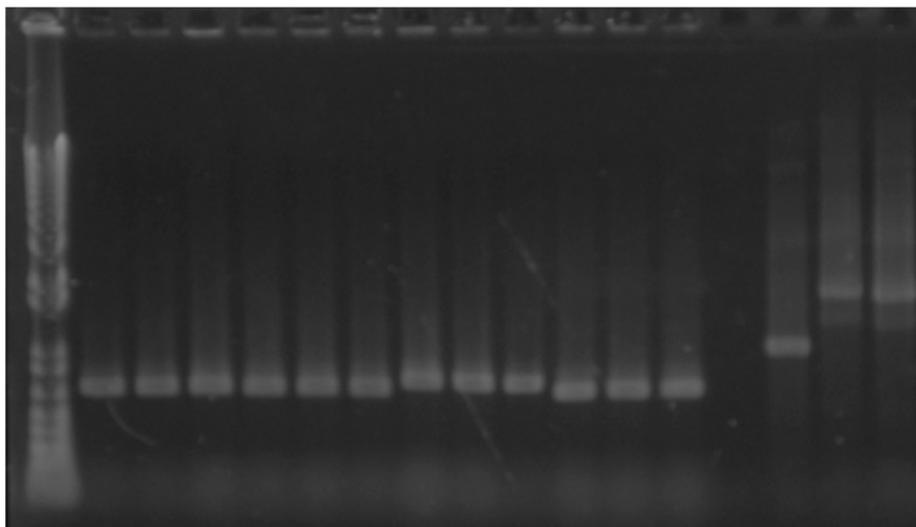


Figura 2: Eletroforese em gel de agarose dos produtos de amplificados para confirmação das colônias transformadas.

Fonte: Autores

Observa-se ainda pequena variação nas bandas resultantes dos produtos de amplificação em decorrência dos diferentes tipos de cauda de direcionamento celular empregadas. Nos poços 2-4 estão as que continham o plasmídeo de direcionamento ao vacúolo, do 5-7 para o retículo endoplasmático, do 8-10 para o cloroplasto, do 11-13 para o apoplasto.

As reações de controle são as presentes nos poços 14 (controle negativo), 15 (controle positivo com plasmídeo previamente recombinado com inserto distinto), 16 e 17 (controles positivos contendo os plasmídeos nativos para direcionamento ao cloroplasto e ao retículo endoplasmático, respectivamente).

4 | CONCLUSÃO

Ao término do presente estudo foi possível a clonagem de uma proteína estrutural do vírus da hepatite C em vetores para direcionamento a diferentes compartimentos da célula vegetal, o que tornará possível expressar tais plasmídeos e verificar se existem diferenças quanto a quantidade e/ou qualidade da proteína produzida, viabilizando o uso destas para o desenvolvimento de kits de diagnóstico ou o seu uso como candidatas vacinais.

REFERÊNCIAS

SIMMONDS, P. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus—15 years on. **Journal of General Virology**, v. 85, n. 11, p. 3173-3188, 2004.

TSCHOFEN, M.; KNOOP, D.; HOOD, E.; STÖGER, E. Plant molecular farming: much more than medicines. **Annual Review of Analytical Chemistry**, v. 9, p. 271-294, 2016.

VIEGAS, V. S. M.; OCAMPO, C. G.; PETRUCCELLI, S. Vacuolar deposition of recombinant proteins in plant vegetative organs as a strategy to increase yields. **Bioengineered**, v. 8, n. 3, p. 203-211, 2017.

WHO - World Health Organization. Hepatitis C. 2015. Fact sheet N° 164. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/> acesso em 13 de setembro de 2017.

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

