

ESTUDOS IN VITRO DA PROTEÍNA 3CLPRO DE SARS-COV-2: UMA PROPOSTA PARA IDENTIFICAÇÃO DE POTENCIAIS COMPOSTOS ANTIVIRAIS PARA A COVID-19

II InovaBiotec - Congresso de Inovação e Biotecnologia, 2ª edição, de 14/07/2021 a 17/07/2021
ISBN dos Anais: 978-65-89908-41-8

ANTON; Débora Bublitz¹, DUCATI; Rodrigo Gay², GOETTERT; Márcia Inês³, TIMMERS; Luís Fernando Saraiva Macedo⁴

RESUMO

O SARS-CoV-2, responsável por causar a Covid-19, já infectou 180 milhões de indivíduos ao redor do mundo e causou a morte de quase 4 milhões de pessoas. Entre os alvos terapêuticos para a Covid-19 investigados, destaca-se a 3CL protease (3CLpro), uma enzima responsável por clivar poliproteínas formadas após a tradução do RNA viral, liberando proteínas não-estruturais necessárias para a replicação do SARS-CoV-2. Com o objetivo de obter a 3CLpro para ser utilizada na busca *in vitro* por compostos inibidores dessa proteína com potencial atividade antiviral, este estudo visou padronizar um protocolo de expressão e purificação da 3CLpro de SARS-CoV-2 em *Escherichia coli*. A expressão do plasmídeo pET-28a(+) contendo o gene da 3CLpro de SARS-CoV-2 foi realizada em *E. coli* BL21(DE3), a partir da indução com IPTG após a densidade óptica (OD600) atingir 0,5-0,6. Este processo foi repetido três vezes e, ao final, obteve-se 1,5 g de massa bacteriana da qual foi extraído as proteínas. O processo de purificação da 3CLpro foi realizado por cromatografia de afinidade (resina de níquel), utilizando um gradiente de Imidazol de 25 mM a 400 mM. Para verificar cada etapa da purificação e determinar sua eficiência foi realizado a eletroforese em gel de poliacrilamida SDS (SDS-PAGE), enquanto a proteína purificada foi dosada pelo método de Bradford. Com esse protocolo, obteve-se 0,304 mg/mL da 3CLpro, totalizando 4,26 mg de proteína no volume de amostra purificada. As próximas etapas serão caracterizar a enzima obtida, identificar compostos com maior afinidade pela 3CLpro através de um *screening* virtual e ensaios enzimáticos, bem como avaliar o potencial antiviral e anti-inflamatório dos compostos que apresentarem maior afinidade pela proteína em modelos celulares *in vitro*. Como resultados futuros, espera-se encontrar um potencial composto inibidor da 3CLpro com ação antiviral e anti-inflamatória e, dessa forma, contribuir na busca por tratamentos para a Covid-19.

PALAVRAS-CHAVE: 3CLpro, Coronavírus, Covid-19, SARS-CoV-2

¹ PPGBiotec Univates, debora.anton@gmail.com

² PPGBiotec Univates, rodrigo.ducati@univates.br

³ PPGBiotec Univates, marcia.goettert@univates.br

⁴ PPGBiotec Univates, luis.timmers@univates.br