

(BIOTECNOLOGIA E SAÚDE) CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECA NAIVE DE NANOCORPOS DE LAMA GLAMA COMO ESTRATÉGIA PARA SELEÇÃO DE INSUMOS ANTIVIRAIS.

Encontro Nacional dos Estudantes de Biotecnologia, 8^a edição, de 26/07/2021 a 30/07/2021
ISBN dos Anais: 978-65-89908-64-7

ASSIS; Livia Coelho de¹, BRISIGELLO; Camila Sillos Rosas², BEZERRA; Marcus Rafael Lobo³, TEIXEIRA; Dárcio Ítalo Alves⁴, PEREIRA; Soraya dos Santos⁵, FERNANDES; Carla Freire Celedonio⁶

RESUMO

Animais da família *Camelidae*, além de anticorpos convencionais, produzem anticorpos desprovidos de cadeias leves e do domínio CH1, denominados de anticorpos de cadeia pesada (HCAb). Os HCAb, possuem estrutura compacta (90kDa), quando comparado a IgG convencional (150kDa) e a ligação ao antígeno ocorre no único domínio denominado VHH ou nanocorpo. O VHH tem peso molecular de aproximadamente 15 kDa e as regiões conservadas (FRs) possuem alta similaridade com as do VH humano. A alta similaridade contribui para baixa imunogenicidade e substituições aminoacídicas nas regiões FRs conferem melhor solubilidade e termoestabilidade. Devido suas características, os VHHs fornecem perspectivas à diagnósticos mais específicos e sensíveis, além de estratégias terapêuticas seguras e com boa efetividade. A maioria dos VHHs isolados são oriundos de bibliotecas construídas com sangue de animais imunizados, no entanto, as bibliotecas *naive* vem se mostrando uma alternativa interessante, devido à sua grande diversidade e a possibilidade de identificação de diferentes ligantes, mesmo em uma biblioteca pequena (10^7). O objetivo do estudo é a construção de uma biblioteca *naive* a partir de amostras de oito animais *Lama glama* para seleção de antígenos de interesse. Foram coletados cerca de 40 mL de sangue de cada animal para o isolamento de linfócitos periféricos, utilizando o reagente *Ficoll-Paque PLUS® - For in vitro isolation of lymphocytes* (Amersham Biosciences). A quantidade de células foi determinada em câmara de Neubauer ($1,5 - 9 \times 10^6$ células/mL). Em seguida, foi realizada a extração do RNA utilizando *TRIzol® Reagent* (Invitrogen™) e posterior quantificação. Para síntese de cDNA foi utilizado o kit *SuperScript™ III First-Strand Synthesis System* (Invitrogen). A amplificação do VHH foi realizada por meio de duas reações de PCR (NESTED-PCR). Na primeira, amplificou-se dois fragmentos gênicos, correspondentes a região VH-CH1-CH2 da IgG1 convencional (900 pb) e a região VHH-CH2 das IgG 2 e 3 (HbAc) (600 pb). Os fragmentos referentes a VHH-CH2 (600pb) foram excisados do gel, purificados e submetidos a PCRII utilizando primers que contém as sequências para inserção de sítios das enzimas de restrição *Sfi* e *Not*. Após eletroforese em gel de agarose, observou-se o fragmento de cerca de 400 pb, referente a região VHH. Os VHHs serão ligados ao vetor fagomídeo pHEN-1 e a biblioteca *naive*, construída com auxílio do fago auxiliar M13KO7, será usada para seleção de nanocorpos para os vírus da febre amarela e Covid19. Agradecimentos: Fiocruz (VPPIS-004-FIO18-35/VPPCB-005-FIO-20-2-17). Trabalho aprovado na CEUA/UECE (08863241/2020).

PALAVRAS-CHAVE: nanocorpos, biblioteca naive, antivirais

¹ Fiocruz Ceará, liviacda@gmail.com

² Fiocruz Ceará, camilasillos@gmail.com

³ Fiocruz Ceará, rafael.lobobezerra@gmail.com

⁴ Universidade Estadual do Ceará, darcio.teixeira@uece.br

⁵ Fiocruz Rondônia, soraya.santos@fiocruz.br

⁶ Fiocruz Ceará, carla.celedonio@fiocruz.br