

PADRONIZAÇÃO DA EXPRESSÃO E PURIFICAÇÃO DA PROTEÍNA HDAg DO VÍRUS DA HEPATITE DELTA (HDV)

DOS SANTOS, Eliza Lima¹; PRADO, Nidiane Dantas Reis²; DALL'ACQUA, Deusilene Souza Vieira³; PEREIRA, Soraya dos Santos²

1. Centro Universitário São Lucas (UniSL)
2. Laboratório Engenharia de Anticorpos – Fiocruz Rondônia
3. Laboratório de Virologia Molecular – Fiocruz Rondônia

Introdução/Objetivo: O vírus da hepatite Delta (HDV), é altamente patogênico, com grande capacidade de causar doenças hepáticas como cirrose e câncer, entretanto, é defectivo, necessitando da presença do vírus da hepatite B (HBV) para sua replicação e expressão. No mundo, há cerca de 257 milhões de pessoas infectadas com o vírus da hepatite B na sua forma crônica. No Brasil, o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan) relatou 247.890 casos de hepatite B e 4.156 casos de hepatite Delta nos últimos 20 anos. O diagnóstico do HDV é realizado por meio da detecção de anticorpos anti-HDV, ou pela quantificação do RNA viral, acrescentado de informações médicas obtidas para a confirmação clínica, porém há uma limitação na disponibilidade de insumos diagnóstico. Assim, este estudo teve como objetivo realizar a expressão e purificação do antígeno delta (HDAg), para o desenvolvimento de diferentes formatos de ensaios diagnósticos, para fins de detecção da infecção pelo HDV. **Materiais E Métodos:** As sequências gênicas do HDAg, genótipos I e III recombinadas pET 28 b(+) foram expressas em bactéria *Escherichia coli* em cepa BL21 (DE3). Para a etapa de purificação, houve lise celular pelo método de sonicação, com variações do tempo (10 segundos a 3 minutos e 30 segundos) sendo adaptado de acordo com os protocolos realizados, mantendo a amplitude em 40%, em seguida, houve purificação pelo método de cromatografia de afinidade utilizando cobalto imobilizado HisGraviTrap™ e níquel imobilizado HisLink™. O perfil eletroforético do antígeno foi analisado por SDS-PAGE 15%. Após análise, as amostras com perfil adequado foram

diafiltradas em Amicon® Ultra - 3kDa (Merck Millipore). **Resultados E**

Discussão: A partir dos experimentos realizados até o momento, houve a análise do perfil eletroforético das frações purificadas, com isso foi possível observar a presença de bandas de aproximadamente 26 kDa, correspondente ao HDAg recombinante. A utilização de uréia 8M e NaCl 1M se mostraram efetivos para a lise e purificação das proteínas heterólogas. A utilização da uréia no processo permite uma desnaturação parcial da proteína, permitindo exposição da cauda de histidina e conseqüentemente viabilizando a purificação por cromatografia de afinidade com íon metálico imobilizado. A utilização de NaCl auxilia na solubilização da proteína, favorecendo também sua purificação.

Conclusão: Os resultados obtidos demonstram a obtenção do HDAg em concentração e grau de pureza satisfatório. A obtenção desta proteína purificada viabiliza a utilização do HDAg recombinante para desenvolvimento de diferentes formatos de diagnóstico para detecção do HDV.

Agradecimentos: Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Fiocruz Rondônia (PIBIC) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa. Ao Centro Universitário São Lucas (UniSL) ao curso de graduação em Farmácia. À Fiocruz Rondônia por fornecer estrutura e recursos necessários para o desenvolvimento das pesquisas. À toda equipe do Laboratório Engenharia de Anticorpos por auxiliarem no processo de aprendizagem durante a Iniciação Científica.

Palavras-chave: Hepatite Delta; Diagnóstico; Expressão; Purificação.

E-mail: eliza.l.santos200@gmail.com