

**REA 07 - Obtenção da proteína recombinante E2 do vírus Chikungunya como insumo para o desenvolvimento de um novo teste diagnóstico**

Carolina Lessa-Aquino<sup>1\*</sup>; Haroldo Cid da Silva Junior<sup>1</sup>; Karen Soares Trinta<sup>1</sup>; Gabriela dos Santos Esteves<sup>1</sup>; Edimilson Domingos da Silva<sup>1</sup>; Marco Alberto Medeiros<sup>1</sup>.

1 Bio-Manguinhos / Fiocruz.

**Introdução:**

O vírus Chikungunya (CHIKV) é um membro da família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus*. Este vírus é transmitido a humanos pela picada de mosquitos do gênero *Aedes*. O CHIKV tem sido responsável por epidemias em diversos países, inclusive no Brasil, onde emergiu em 2014. O diagnóstico clínico desta arbovirose é dificultado pela sintomatologia inespecífica, sendo a confirmação da doença realizada através de diagnóstico laboratorial por sorologia, qRT-PCR ou isolamento viral. Neste contexto, o desenvolvimento de insumos para o diagnóstico de CHIKV é de extrema relevância para o fortalecimento das políticas públicas de enfrentamento a esta doença.

**Objetivo:**

Obter a proteína recombinante E2 de CHIKV (rE2) e avaliar a sua reatividade frente a soros de pacientes com Chikungunya.

**Metodologia:**

A sequência correspondente à proteína E2 sem a região transmembrana foi amplificada por PCR e o amplicon foi digerido com as enzimas NdeI e HindIII para clonagem no vetor pET 28a. A clonagem foi confirmada por PCR e sequenciamento nucleotídico. O clone selecionado foi transformado em *Escherichia coli* BL21 DE(3) Star e a expressão da proteína recombinante foi realizada em meio *Terrific Broth*, com indução na fase exponencial por IPTG 0,5mM durante 4 horas a 37°C. A rE2 foi purificada por IMAC em coluna HP HisTrap, sob condições desnaturantes. A soro-reatividade da proteína foi avaliada para IgG, contra soros positivos para Chikungunya (n=3), Zika (n=2) e Dengue (n=2), por *dot blot* e *western blot*, com detecção por fosfatase alcalina.

**Resultado:**

A sequência foi amplificada por PCR e a clonagem do amplicon no vetor de expressão gerou 8 clones, dos quais 5 foram confirmados quanto à presença do inserto. O clone 1 apresentou 100% de identidade e foi selecionado para expressão da rE2. A proteína foi expressa na forma de corpo de inclusão, que foi solubilizado e submetido à purificação. A rE2 foi dialisada em tampão Tris 20mM L-arginina 75mM Ureia 2M e apresentou reatividade IgG positiva apenas para as 3 amostras de soro de indivíduos confirmados para infecção por CHIKV, tanto em *dot blot* quanto em *western blot*.

**Conclusão:**

A proteína rE2 de CHIKV produzida apresentou soro-reatividade específica para pacientes com Chikungunya. Novos ensaios serão realizados a fim de avaliar a sua reatividade frente a um painel sorológico mais abrangente e confirmar o seu potencial diagnóstico.

**Palavras-chave: Febre Chikungunya; Proteína Recombinante; Diagnóstico**