

Declaração de Direito Autoral A Participação adota a Licença Creative Commons de Atribuição (CC-BY 4.0) em todos os trabalhos publicados, de tal forma que são permitidos não só o acesso e download gratuitos, como também o compartilhamento, desde que sem fins lucrativos e reconhecida a autoria. Fonte:

<https://periodicos.unb.br/index.php/participacao/about/submissions>.

Acesso em: 19 jul. 2021.

REFERÊNCIA

MORAES, Lidia Maria Pepe de *et al.* Produção de enzimas para diagnóstico de CoVid-19. **Participação**, Brasília, ano 19, ed. esp., n. 34, p. 130-131, nov. 2020.

Disponível em:

https://drive.google.com/file/d/1_y95_7QMT_wC8vhwQUCJamcPgTvbjtBC/view.

Acesso em: 19 jul. 2021.

Produção de enzimas para diagnóstico de CoVid-19

Production of enzymes for the diagnosis of CoVid-19

Lidia Maria Pepe de Moraes¹

Eliane Ferreira Noronha

Fernando Araripe Gonçalves Torres

Janice Lisboa de Marco

Os coronavírus representam um grupo de vírus cujos genomas são baseados em RNA fita simples de sentido positivo (+)ssRNA sendo causadores de diversas infecções respiratórias em humanos, incluindo a COVID-19. O diagnóstico rápido e preciso deste vírus é fundamental para nortear o tratamento da doença. Atualmente, os mais importantes testes de diagnóstico deste vírus são baseadas em imunoenaios (ELISA) ou em testes moleculares (PCR). Por se tratar de um genoma de RNA, a detecção do coronavírus se dá pela RT-PCR que envolve o uso de duas enzimas: transcriptase reversa e Taq DNA polimerase. Trata-se do padrão ouro para diagnóstico laboratorial da COVID-19 para amostras coletadas no trato respiratório superior ou inferior. Vários kits de RT-PCR foram desenvolvidos desde a eclosão da pandemia. Em nosso laboratório já dispomos de clones bacterianos que produzem essas enzimas em grande quantidade e poderiam ser empregados para desenvolvimento de um kit nacional.

Por falta de recursos e de pessoal para se dedicar a este projeto, a proposta foi readequada para a produção da Taq DNA Polimerase somente. O plasmídeo contendo o gene da Taq DNA polimerase recombinante será transformado em linhagem apropriada de *E. coli*. Os clones produtores da enzima serão selecionados. As condições de produção serão ajustadas e a enzima produzida purificada por cromatografia de troca iônica. A seguir, as condições de reação e o controle de qualidade serão feitos. Uma vez definida as condições de produção, o volume será

¹ Coordenadora.

aumentado para 1 L e depois, se possível para 10 L.

Produção de Taq DNA Polimerase de boa qualidade para testes de diagnóstico.

REFERÊNCIAS

Long C, Xu H, Shen Q, Zhang X, Fan B, Wang C, Zeng B, Li Z, Li X, Li H. Diagnosis of the Coronavirus disease (COVID-19): rRT-PCR or CT? **Eur J Radiol**. 2020 May; 126:108961. doi: 10.1016/j.ejrad.2020.108961. Epub 2020 Mar 25. PMID: 32229322; PMCID: PMC7102545.

<https://www.promega.com.br/en/applications/sars-cov-2-covid-serology-tests-pcr-testing/>

Chan JF-W, Yip CC-Y, To KK-W, Tang TH-C, Wong SC-Y, Leung K-H, Fung AY-F, Ng AC-K, Zou Z, Tsoi H-W, Choi GK-Y, Tam AR, Cheng VC-C, Chan K-H, Tsang OT-Y, Yuen K-Y. 2020. Improved molecular diagnosis of COVID-19 by the novel, highly sensitive and specific COVID-19-RdRp/Hel real-time reverse transcription-PCR assay validated in vitro and with clinical specimens. **J Clin Microbiol** 58:e00310-20. <https://doi.org/10.1128/JCM.00310-20>.

PALAVRAS-CHAVE: TaqDNA Polimerase recombinante; E. coli; Produção; Purificação; Escalonamento.