

# Vacinas de DNA Plasmídico (pDNA)

CAEIRO, Mariana<sup>(1)</sup>; DEMBA, Denise<sup>(1)</sup>; FERNANDES, Rafaela<sup>(1)</sup>; PALAIO, Lúcia<sup>(1)</sup>; ROCHA, Débora<sup>(1)</sup>; NEVES, Ana<sup>(1)</sup>; RIBEIRO, Mónica<sup>(1)</sup> & GOMES, Gabriela<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> 12<sup>o</sup>A (2020/2021) Escola Básica e Secundária Alfredo da Silva, Praça de Bento Jesus Caraça, 2830-322 Barreiro, Portugal

<sup>(2)</sup> Escola Superior de Tecnologia do Barreiro, Instituto Politécnico de Setúbal, Rua Américo da Silva Marinho, 2839-001 Lavradio, Portugal



## O que são Vacinas de pDNA?

As vacinas de pDNA habitualmente são constituídas por um pequeno pedaço circular de DNA bacteriano, chamado plasmídeo, modificado geneticamente para produzir respostas imunológicas, em organismos contra antígenos de um patogénico causador de doenças [3].

A plataforma de vacinas de DNA é adequada para lidar com ameaças de doenças infecciosas emergentes ou suspeitas, antes de se tornarem pandemias, oferecendo a oportunidade de responder rapidamente a emergências. O tempo de desenvolvimento e produção de vacinas antes das vacinas de DNA era um grande obstáculo, uma vez que, o seu processo de fabrico dependia de morosos processos de cultura de células, ao contrário do que é necessário para estas vacinas de DNA, que sendo produzidas em microrganismos, tais como a *Escherichia coli*, bactéria cujo tempo de replicação é de apenas 8h [1, 2].

O objetivo deste trabalho foi a purificação de pDNA de *E. coli* com a utilização da eletroforese em gel de agarose (que serve para fazer a separação de íões num campo elétrico, neste caso para separar os ácidos nucleicos por tamanhos, sendo que os maiores ficam mais próximos dos poços) e a quantificação de ácidos nucleicos no Nanodrop.

## Materiais e Métodos

Para a purificação do pDNA foi utilizado o Kit NYZMiniprep, com as seguintes etapas:

1. Cultivar e colher células bacterianas
2. Lise celular
3. Clarificação do lisado
4. Adsorção do pDNA à coluna
5. Lavar e secar a membrana de sílica
6. Eluir DNA altamente puro
7. Eletroforese horizontal em gel de agarose
8. Quantificação de ácidos nucleicos

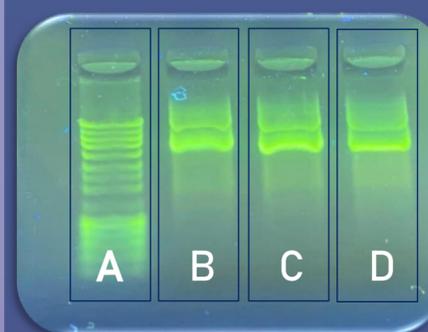
## Resultados

Na atividade laboratorial realizada obtivemos excelentes resultados, no que toca à quantidade de ácidos nucleicos presentes nas nossas amostras, o que significa que a purificação do pDNA foi bem sucedida.

	2	3
A	B	-6.96
B	-8.43	229
C	-8.73	268
D	-8.53	168
E	-8.63	202
F	-8.82	54.5
G	-8.92	154
H	-8.53	217

Nesta imagem encontram-se os resultados da quantidade de ácidos nucleicos presentes nas nossas amostras que obtivemos a partir da utilização do Nanodrop.

Como se pode observar os resultados, com exceção de um, são muito elevados e melhores do que era esperado no início, tendo em conta que, utilizámos um kit de preparação rápida.



Na eletroforese em gel de agarose, da foto ao lado, confirmámos os resultados que obtivemos a partir da utilização do Nanodrop.

A - Marcador de DNA  
B, C, D - pDNA puro

## Discussão

Foram feitas 5 purificações de pDNA pet28, um plasmídeo *low copy*, o que significa que por cada célula existem poucas moléculas deste pDNA. Por essa razão foi alterado o protocolo para maximizar a recuperação de pDNA, o que resultou em concentrações elevadas de pDNA. Anteriormente, a Professora Ana Gabriela Gomes realizou a purificação deste pDNA e obteve, com o protocolo desenvolvido no laboratório, cerca de 50 ng/ $\mu$ l, em 100  $\mu$ l (5000 ng). Por isso, os resultados são correlacionáveis e semelhantes pois, no mesmo volume, com a amostra com concentração de 217 ng/ $\mu$ l, foram obtidos 6510 ng em 30  $\mu$ l e com a concentração de 154 ng/ $\mu$ l, foram obtidos 4620 ng.

### Bibliografia:

- (1) - Aldeia, C.C.A. (2015) - *A genética e a saúde humana: desenvolvimento de vacinas através da manipulação genética*. <https://www.esb.ucp.pt/pt/central-noticias/genetica-e-saude-humana-desenvolvimento-vacinas-atraves-manipulacao-genetica>. Consultado em 24/11/2020.
- (2) - Ghanem, A.; Healey, R. & Adly F.G. (2013) - Current trends in separation of plasmid DNA vaccines: A review. *Analytica Chimica Acta* 760: 1-15.
- (3) - Kano, F.S.; Vidotto, O. & Vidotto, M.C. (2007) - Vacina de DNA: aspectos gerais e sua aplicação na medicina humana e veterinária. *Seminário Ciências Agrárias, Londrina*. 28: 709-726.