RELATÓRIO ANUAL DA COMISSÃO INTERNA DE BIOSSEGURANÇA
CIBio-UFV – ANO 2017

1. Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - CNPJ: 25.944.455/0001-96

2. CQB nº: 0024/97

3. Período a que se refere: 01 de janeiro de 2017 a 31 de dezembro de 2017.

4. Informar sobre as alterações ocorridas na composição da CIBio:

A atual CIBio foi estabelecida pelo Ato 0508/20154/RTR de 21/05/15 e aprovada pela CTNBio Parecer 4628/2015 em 05/08/15, e é constituída por: Prof. Leandro Licursi de Oliveira (Presidente); Prof. Abelardo Silva Júnior; Prof. Denise Mara Soares Bazzolli; Prof. Francisco Murilo Zerbini Júnior; Prof. Juliana Lopes Rangel Fietto; Prof. Wagner Campos Otoni. Como membros suplentes: Prof. Adriano Nunes Nesi; Prof. Gustavo Costa Bressan; Prof. Hilário Cuquetto Mantovani.

5. Relacionar as unidades operativas e instalações utilizadas, especificando os níveis de biossegurança, técnico principal, os projetos de pesquisa ou atividades concluídos ou em andamento, constando os objetivos, a relação dos OGM e derivados que foram objeto das atividades (mencionar o nome comum, nome científico das espécies, genes introduzidos, sua origem e funções específicas), incluindo resumo dos resultados mais relevantes obtidos e referenciar, quando houver, publicações e pedidos de patentes.

Unidades operativas que estão sob a cobertura do CQB 024/97:

- Instalações do BIOAGROUFV. Comunicado CTNBio nº 19, Processo n.º 01200.002610/9704.
- Instalações do Departamento de Engenharia Florestal – UFV. Comunicado CTNBio nº 67, Processo n.º 01200.002610/9704.
- Instalações da Fazenda Experimental de Coimbra. Comunicado CTNBio nº 85, Processo nº 01200.002610/9704.
- Casa de Vegetação OGM e Casa de Vegetação localizado no Viveiro de Pesquisas Florestais DEF/UFV; Laboratório de Cultura de Tecido II e Laboratório de Biotecnologia e Biodiversidade para o Meio Ambiente localizado no BIOAGRO; e Laboratório de Solos Florestais localizado no Departamento de Solos/UFV. Parecer CTNBio 0847/2006.
- Casa de Vegetação na unidade que faz parte do BIOAGRO. Parecer CTNBio 3519/2012.
- Laboratório de Imunoquímica e Glicobiologia (LIG) e Laboratório de Imunovirologia Molecular (LIM). Parecer CTNBio 4775/2015.
- Laboratório de Cultura de Tecidos e o Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal. Parecer CTNBio 4945/2016.
- Laboratório de Biologia Molecular de Plantas II e Laboratório de Cultivo e Crescimento de Plantas. Parecer CTNBio 4939/2016.

Nestas unidades são desenvolvidos os seguintes projetos:

5.1. Projetos concluídos em 2017:

5.1.1. Identificação de potenciais alvos antigênicos do Mycoplasma Hyopneumoniae e desenvolvimento de vacinas quiméricas: estudo do potencial imunogênico de resposta padrão Th1 em modelos murinos e suínos

Mycoplasma hyopneumoniae é considerado o causador primário da pneumonia enzoótica suína (PES), doença crônica e altamente contagiosa. A infecção por esta bactéria acarreta consideráveis perdas econômicas à produção de carne suína devido, principalmente, à significativa perda de peso dos animais, gastos com tratamento e redução de preços das carcaças. As manifestações

clínicas associadas à infecção pelo agente têm sido frequentes e comuns nas principais regiões produtoras do país, o que acarreta diminuição da produtividade e grandes prejuízos econômicos ao setor nacional e estadual. Em termos práticos, a grande maioria das granjas comercias no Estado e no Brasil são infectadas pelo Mycoplasma Hyopneumoniae. Atualmente existem vacinas comercias de tecnologia importada, utilizando cepas não isoladas no Brasil que são baseadas em bacterinas preparadas a partir de células inativas do microorganismo, na qual é responsável por uma proteção parcial. Desta forma, a campo é comum falhas na vacinação, frequentemente associada à falta de proteção cruzada entre cepas encontradas em vacinas e cepas de campo. Considerando a experiência de parte da equipe em vacinologia de suínos, que recentemente em parceria com a FAPEMIG desenvolveu uma vacina contra circovirose suína (processo de transferência tecnológica – Empresa Ourofino – Patente: PI1020130018) o projeto objetiva desenvolver antígenos recombinantes como candidatos a vacinas de forte resposta imunológica, em especial resposta celular (Th1), contra o Mycoplasma Hyopneumoniae, também passível patenteamento, escalonamento e transferência tecnológica.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: O material genético incluído nos OGMs (Escherichia coli BL21) refere-se a sequência de nucleotideos que codifica a a proteína P97 adesina da bactéria ao vetor de expressão PET-29a Novagem®.

Nível de contenção: NB-P 1.

Medidas de biossegurança adotadas: Em relação ao acesso, a área em regime de contenção será permitida somente a pesquisadores e funcionários diretamente envolvidos no trabalho, os quais serão informados previamente sobre as normas de biossegurança. A manipulação/descarte de material que entraram em contato com o microorganismos transformado será realizada seguindo os mais exigentes padrões de contenção, com recipientes destinados

exclusivamente ao descarte destes materiais seguido de autoclavagem e por fim eliminação dos resíduos por incineração. A referida área de trabalho possuirá um livro de registro de informações sobre os experimentos em andamento e haverá uma sinalização na entrada do laboratório indicando a experimentação com OGMs. Todo e qualquer acidente, bem como as informações inerentes aos OGMs serão informados à CIBio da instituição.

Equipe envolvida: Abelardo Silva Júnior (Líder); Marcus Rebouças Santos; Márcia Rogéria de Almeida; Gustavo Costa Bressan; Maria Aparecida S. Moreira.

Órgão financiador: FAPEMIG, CAPES e CNPq.

Resultados: Tese de Mestrado em Medicina Veterinária do Marcus Rebouças Santos. Identificação de fragmentos de anticorpos (scFv) ligantes e regiões ligantes da proteína do capsídio de porcine circovirus 2.

5.1.2. Obtenção de soja [Glycine max (L.) Merrill] geneticamente modificada para a composição da fração óleo.

O objetivo deste trabalho é a obtenção de cultivares de soja geneticamente modificados que apresentem silenciamento dos genes que codificam para as enzimas oleoil dessaturase, colina fosfotransferase ou lisofosfatidilcolina aciltransferase, envolvidas na biossíntese de ácidos graxos, visando aumentar o teor de ácido oléico e diminuição de ácido linolênico. Serão utilizados três processos de PTGS (silenciamento gênico pós-transcricional): co-supressão, RNA antisenso e RNA de interferência. Os processos de transformação serão realizados com embriões somáticos, cotilédones imaturos e nós cotiledonares de soja infectados por A. tumefaciens (LB4404) e mediados por sonicação. O teor de ácidos graxos do óleo em plantas transformadas será medido por cromatografia gasosa.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: Estas cultivares de soja estão sendo transformadas com os seguintes genes

envolvidos na biossíntese de ácidos graxos: oleoil dessaturase, colinafosfotransferase ou lisofosfatidilcolina aciltransferase. Estes genes estão clonados em vetores da série pCAMBIA e pKANNIBAL utilizados especificamente para transformação genética via Agrobacterium tumefaciens. No pCAMBIA, o T-DNA apresenta, além do gene de interesse, marcadores seletivos para antibióticos (canamicina e higromicina) e/ou herbicida (fosfinotricina), além do gene repórter GUS (b-glucoronidase). A expressão de todos os genes está sob o controle do promotor do vírus do mosaico da couve-flor (35S) ou do promotor do gene que codifica para a subunidade alfa da enzima beta-conglicinina (7S), específico de semente.

Nível de contenção: NB-P 1

Medidas de biossegurança: Ainda não foram obtidas plantas transgênicas regeneradas. Todos os embriões de soja submetidos à transformação estão sendo mantidos in vitro, em sala de cultivo. Posteriormente, as plantas transformadas serão mantidas em casa de vegetação OGM para aclimatização. Após identificação das plantas que contenham as características de interesse, estas serão disponibilizadas para o Programa de Melhoramento da Qualidade da Soja do Bioagro/UFV.

Equipe envolvida: Maurilio Alves Moreira (Líder); Everaldo Gonçalves de Barros; Wagner Campos Otoni; Andreia Barcelos Passos Lima; Polyana Kelly Martins; Beatriz de Almeida Barros; Cassiana Severiano de Sousa; Lílian da Silva Fialho.

Órgão financiador: FAPEMIG e CNPq.

Resultados: Tese de Doutorado em Genética e Melhoramento da Polyana Kelly Martins. Transformação genética em nós cotiledonares de soja visando à co-supressão do gene da lisofosfatidilcolina aciltransferase.

5.1.3. Patogenicidade de Colletotrichum spp. ao cafeeiro.

O gênero Colletotrichum é considerado o agente causal de várias doenças em uma ampla gama de hospedeiros. Em cafeeiro, C. gloeosporioides está associado à seca de folhas e frutos, embora ainda não tenha sido possível comprovar sua patogenicidade, uma vez que os sintomas não aparecem após a inoculação. Diante disso, existe a hipótese de que C. gloeosporioides seja endofítico ao cafeeiro, podendo causar doenças quando a planta é submetida a determinadas condições de estresse. A fim de esclarecer a interação entre C. gloeosporioides e cafeeiro, se endofítica ou patogênica, isolados provenientes de Coffea arabica e C. canephora, com sintomas de necrose e de mancha manteigosa, foram marcados com o gene GFP, que codifica para uma proteína verde fluorescente. Esta ferramenta permite monitorar o crescimento do fungo in vivo, sem qualquer intervenção externa, fornecendo informações sobre o seu desenvolvimento in situ.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: Colletotrichum gloesporioides, C. acutatum, E. coli contendo o plasmídeo pSM1. Isolados do fungo Colletotrichum gloeosporioides e C. acutatum, geneticamente marcados com GFP (green fluorescent protein), pela transformação com o plasmídeo pSM1.

Nível de contenção: NB-P 1.

Medidas de biossegurança adotadas: 1. Acesso ao laboratório restrito ao pessoal credenciado junto ao Bioagro, controlado pelo pesquisador principal. 2. Todas as manipulações envolvendo OGM são realizadas em câmara de fluxo laminar. 3. Todo material contendo OGM é esterilizado antes do descarte, por meio de adição de hipo-clorito de sódio (material líquido) ou autoclavagem (material sólido)

Equipe envolvida: Eunize Maciel Zambolim, Abelardo Silva Júnior (Líder); Eveline Teixeira Caixeta; Laércio Zambolim; Marisa Vieira Queiroz; Ney Sussumu Sakiyama; Rejane do Livramento Freitas.

Órgão financiador: FAPEMIG

5.1.4. Aplicações da filogeografia molecular para a reconstrução da história evolutiva de organismos de importância agrícola do estado de Minas Gerais.

Este plano de trabalho está focalizado no desenvolvimento e aplicação da filogeografia molecular para reconstruir a história evolutiva de organismos de importância agrícola no Brasil, com ênfase no Estado de Minas Gerais, e em treinar recursos humanos na área molecular aplicada a agropecuária. O objetivo a longo prazo é gerar conhecimentos científicos e tecnológicos que poderão ser aplicados na elaboração de novas estratégias de controle e monitoramento de pragas e doenças, de prospecção de germoplasma e de conservação da biodiversidade. O plano de trabalho dará continuidade aos projetos tecnicos-científicos atualmente em andamento, sub coordenação do proponente, os quais investigam (i) a filogeografia molecular de fitopatógenos (ferrugem da soja - Phakopsora pachyrhizi, e crestamento foliar de Cercospora em soja - Cercospora kikuchii) e pragas (caruncho do feijao - Acanthoscelides obtectus, e caruncho do milho - Sitophilus zeamais) e (ii) a filogeografia molecular de espécies nativas (cedro - Cedrela fissilis e angicos -Anadenanthera).

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: E. coli DH5alfa, Carapichea ipecacuanha, Anadenanthera colubrina, Cedrela fissilis, Cercospora sojina, Phakopsora pakhirizi, Acanthoscelides obtectus, Sitophilus zeamais. Fragmentos de DNA oriundos de PCR visando clonagem para fins de sequenciamento de DNA (genes clonados: ITS, trnT-trnL)

Nível de contenção: NB-P 1.

Medidas de biossegurança adotadas: Registro de todo material geneticamente modificado desenvolvido; acesso restrito às áreas de manipulação de OGMs; sinalização indicando a experimentação com OGM; autoclavagem de todo material e micro-organismos GM antes do descarte apropriado.

Equipe envolvida: Luiz Orlando de Oliveira (Pesquisador principal); Maira C. M. Freire; Magali G. Garcia; Maria Roméria da Silva; Christina Cleo Vinson; Vanderson Ricardo Jorge; Amanda Teixeira; Juliana Benevenuto; Ana Paula Gomes Soares.

Órgão financiador: International Foundation for Science (IFS)

5.1.5. Identificação de genes e proteínas de interesse biotecnológico em Leishmania através de análise transcriptômica e genômica comparativa.

Objetivou-se neste trabalho analisar o genoma das espécies de Leishmania disponíveis em bancos de dados públicos (L. major, L. braziliensis e L. infantum) para identificar e classificar proteínas comuns destas espécies que não estão presentes nos hospedeiros vertebrados, bem como estabelecer vias metabólicas dependentes entre parasito e hospedeiro.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: O material genético incluído nos OGMs (Escherichia coli BL21) refere-se a sequência de nucleotideos que codifica a enzima NTPDASE do parasito Leishmania ligado ao vetor de expressão PET-21b Novagem®.

Nível de contenção: NB-P 1.

Medidas de biossegurança adotadas: Em relação ao acesso, a área em regime de contenção será permitido somente a pesquisadores e funcionários diretamente envolvidos no trabalho, os quais serão informados previamente sobre as normas de biossegurança. A manipulação/descarte de material que entraram em contato com o microorganismos transformado será realizada seguindo os mais exigentes padrões de contenção, com recipientes destinados exclusivamente ao descarte destes materiais seguido de autoclavagem e por fim eliminação dos resíduos por incineração. A referida área de trabalho possuirá um livro de registro de informações sobre os experimentos em andamento e haverá uma sinalização na

entrada do laboratório indicando a experimentação com OGMs. Todo e qualquer acidente, bem como as informações inerentes aos OGMs serão informados à CIBio da instituição.

Equipe envolvida: Juliana Lopes Rangel Fietto (Líder); Talles Eduardo Ferreira; Márcia Rogéria de Almeida; Luís Carlos Crocco Afonso; Fabio Ribeiro Cerqueira.

Órgão financiador: CAPES.

Resultados: Tese de Doutorado em Bioquímica Agricola de Talles Eduardo Ferreira Maciel. Transcriptoma de Leishmania (V.) braziliensis por RNA-Seq: montagem de transcriptomas, enriquecimento de orfeoma, análise de expressão e anotação dos genes diferencialmente expressos.

5.1.6. Produção de hibridomas para obtenção de anticorpos monoclonais contra a proteína E-NTPDase2 (Nucleosídio Difosfatase) de Leishmania amazonensis.

As ATP-difosfohidrolases (E.C. 3.6.1.5), comumente chamadas de apirases ou E-NTPDases, hidrolisam ligações pirofosfato de nucleosídeos di- e trifosfatados, na presença de cátions divalentes, com liberação de ortofosfato e NMP. Diversas E-NTPDases já foram descritas na interface com o hospedeiro de diversos parasitas humanos, seja localizadas na membrana externa do parasita ou secretadas. O objetivo geral deste projeto é obter hibridomas produtores de anticorpos monoclonais contra a NTPDase2 de Leishmania amazonensis, que sejam capazes de reconhecer de forma específica a isoforma NTPDase2 em relaçao à NTPDase1. Além disto, esperamos obter também algum anticorpo que seja espécie-específico em relação aos parálogos de L. major, L. chagasi e L. braziliensis.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: O material genético incluído no OGM (Escherichia coli BL21) refere-se a sequência de nucleotideos que codifica a enzima NTPDASE I do

parasito Leishmania amazonensis, ligado ao vetor de expressão PET-21b Novagem®.

Nível de contenção: NB-P 1.

Medidas de biossegurança adotadas: Em relação ao acesso, a área em regime de contenção será permitido somente a pesquisadores e funcionários diretamente envolvidos no trabalho, os quais serão informados previamente sobre as normas de biossegurança. A manipulação/descarte de material que entraram em contato com o microorganismos transformado será realizada seguindo os mais exigentes padrões de contenção, com recipientes destinados exclusivamente ao descarte destes materiais seguido de autoclavagem e por fim eliminação dos resíduos por incineração. A referida área de trabalho possuirá um livro de registro de informações sobre os experimentos em andamento e haverá uma sinalização na entrada do laboratório indicando a experimentação com OGMs. Todo e qualquer acidente, bem como as informações inerentes aos OGMs serão informados à CIBio da instituição.

Equipe envolvida: Juliana Lopes Rangel Fietto (Líder); Rodrigo de Barros Freitas; Márcia Rogéria de Almeida Lamêgo; Joaquin Hernán Patarroyo Salcedo; Sérgio Oliveira de Paula.

Órgão financiador: FAPEMIG.

Resultados: Tese de Mestrado em Bioquímica Agricola de Rodrigo de Barros Freitas. Obtenção de hibridomas para a produção de anticorpos monoclonais contra a proteína E-NTPDase-2 de Leishmania major.

5.1.7. Silenciamento de genes envolvidos na síntese de oligossacarídeos de rafinose em sementes de soja.

O objetivo deste projeto é o silenciamento gênico das enzimas estaquiose sintase e/ou rafinose sintase em semente de soja, via interferência por RNA, e avaliação dos efeitos do silenciamento nas plantas de soja transformadas. Uma vez que estas enzimas estão

envolvidas nas etapas finais da via de síntese dos RO, esta estratégia poderia reduzir o conteúdo de RO, via silenciamento gênico semente-específico, sem causar alterações drásticas no metabolismo da planta. Nossa meta é a obtenção de uma variedade de soja com baixa concentração de RO, com maior valor nutricional, destinada a alimentação humana e animal.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: Escherichia coli DH5α, Escherichia coli BL21, Pichia pastoris e Glycine max L. Merril.

Nível de contenção: NB-P 1.

Medidas de biossegurança adotadas: O trabalho com o micro-organismo é feito em capela de fluxo vertical laminar.Todo material de trabalho utilizado como o micro-organismo, assim como, o micro-organismo são descartados após o procedimento de esterilização em autoclave, à temperatura de 121 °C por 20 minutos.

Equipe envolvida: Sebastião Tavares de Rezende (Líder); Ana Paula Gomes Soares; Lídia Nascimento Queiroz; Everaldo Gonçalves de Barros; Valéria Monteze Guimarães.

Órgão financiador: CNPq e FAPEMIG.

Resultados: Tese de Doutorado em Bioquímica Agricola de Ana Paula Gomes Soares. Caracterização de genes envolvidos na biossíntese de oligossacarídeos de rafinose em soja e construção de cassetes de silenciamento do genes da estaquiose sintase, via interferencia por RNA.

Artigo: Soares, Ana Paula Gomes; Guillin, Eduardo A. ; Borges, Leandro Luiz ; Silva, Amanda C. T. da ; Almeida, Álvaro M. R. de ; Grijalba, Pablo E. ; Gottlieb, Alexandra M. ; Bluhm, Burton H. ; Oliveira, Luiz Orlando de . More Cercospora Species Infect Soybeans across the Americas than Meets the Eye. Plos One, 10:e0133495, 2015.

5.1.8. EFETORÔMICA: Utilização de abordagens genômicas integradas na identificação e análise funcional de efetores de fungos causadores de ferrugens visando o desenvolvimento de variedades de plantas com resistência durável.

Os fungos Hemileia vastatrix (ferrugem do cafeeiro), Phakopsora pachyrhizi (ferrugem da soja) e Puccinia psidii (Ferrugem do eucalipto) causam doenças de grande importância econômica para o agronegócio e setor florestal brasileiro. Durante a interação com o hospedeiro, esses parasitas obrigatórios secretam proteínas efetoras que atuam no apoplasto (efetores extracelulares) ou no citoplasma da célula vegetal (efetores citoplasmáticos) onde suprimem as respostas de defesa da planta e promovem mudanças na fisiologia da planta que favorecem a patogênese. O objetivo desse projeto é a elaboração de um catálogo de genes efetores destas ferrugens que são expressos em momentos determinantes do fenótipo das interações por meio da análise transcritômica utilizando a tecnologia de pirosequenciamento, análises de bioinformática, análises funcionais em genótipos resistentes e suscetíveis das plantas hospedeiras e análises genômicas comparativas. Esses estudos permitirão identificar genes de resistência que reconhecem efetores conservados nas três espécies de ferrugens sendo, portanto, mais difíceis de serem suplantados por estes patógenos.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: Receptor: Escherichia coli, Saccharomyces cerevisae e Agrobacterium tumefaciens. Doador: Fungos basidiomicetos: Hemileia vastatrix, Puccinia psidii e Phakopsora pachyrhyzi. cDNAs que codificam proteínas secretadas pelos fungos Hemileia vastatrix, Puccinia psidii e Phakopsora pachyrhizi identificados por meio do sequenciamento de clones de bibliotecas de cDNA da interação ou pela utilização do sistema armadilha de secreção em leveduras. As ORFs completas serão inicialmente clonadas no vetor pGEMT-Easy, utilizando como receptor E. coli. A seguir, as ORFS com ou sem a seqüência

codificadora do peptídeo sinal de secreção são reclonadas no vetor pYST1 e transformadas em S. cerevisae para confirmação na secreção neste sistema. Os genes que codificam proteínas secretadas serão transferidos para cassetes de expressão plasmidial ou de expressão baseado no T-DNA, de forma que a expressão dos genes seja direcionada pelo promotor 35S do vírus do mosaico da couve-flor. Experimentos de agroinfiltração (cassete baseado no T-DNA) e cobombardeamento (cassete plasmidial) em folhas de genótipos resistentes e suscetíveis serão efetuados para identificar genes efetores que codificam proteínas efetores reconhecidas por genes de resistência no hospedeiro homólogo das ferrugens.

Nível de contenção: NB-P 1.

Medidas de biossegurança adotadas: Os organismos geneticamente modificados são manipulados no Laboratório de Genômica (BIOAGRO) que possui a infraestrutura necessária para o crescimento, manipulação, armazenamento e descarte destes OGMs do Grupo I. Os OGMs são manipulados em capelas de fluxo laminar e câmaras de crescimento em placas de petri descartáveis, e todo o material descartado é tratado com água sanitária, ou autoclavado, antes do descarte. Todos os clones OGMs obtidos no laboratório são registrados em caderno de ata e em caderno de registro de clones do laboratório, onde recebem uma sigla e numeração sequencial. Os estudos funcionais são efetuados em folhas destacadas armazenadas em germplox e mantidas em câmaras de crescimento. Após as análises, o material vegetal inoculado ou bombardeado é destruído por autoclav **Design, expressão heteróloga** agem. O uso de jaleco, luvas e demais procedimentos são obrigatórios para todas as pessoas que trabalham no Laboratório de Genômica. O laboratório possui uma capela de exaustão para manuseio de produtos químicos tóxicos, e o corredor de uso comum possui lavatório de olhos e extintores de incêndio. Resíduos químicos são armazenados na capela de exaustão

e recolhidos periodicamente por firma contratada pela UFV e destruídos por incineração.

Equipe envolvida: Sérgio H. Brommonschenkel (Líder); Gilson Azevedo; Michelle Byer; Natalia Penido; Thiago Maia; Valeria Yukari Abe; Judas Tadeu do Rosário de Castro Silva.

Órgão financiador: CNPq.

5.1.9. Expressão heteróloga de genes que codificam enzimas lignocelulolíticas na linhagem hospedeira Kluyveromyces.

No presente projeto será construída uma biblioteca metagenômica a partir de um consórcio microbiano termofílico isolado em nosso laboratório e será efetuado um screening dessa biblioteca por ensaios enzimáticos de celulases, hemicelulases, lacases e peroxidases. Os insertos dos clones positivos serão sequenciados e clonados num vetor de expressão integrativo para K. marxianus. Será obtida uma linhagem de K. marxianus UFV-3 mutante para o gene MNN10 na qual os genes selecionados e clonados no vetor de expressão serão usados para transformar a linhagem K. marxianus UFV-3 mutante. Os transformantes com alta velocidade de crescimento a altas temperaturas serão selecionados em cultura contínua, e porteriormente será efetuada a análise da expressão e secreção das enzimas lignocelulolíticas recombinantes.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: Receptor: Levedura Kluyveromyces marxianus. Parental: Kluyveromyces marxianus. Genes que codificam enzimas lignocelulolíticas

Nível de contenção: NB-P 1. Os experimentos estão sendo realizados no Laboratório de Fisiologia de Micro-organismos (BIOAGRO).

Medidas de biossegurança adotadas: Todos os procedimentos serão realizados com luvas descartáveis; O local de trabalho estará sempre limpo e qualquer respingo de cultura celular, mesmo não

patogênica, será devidamente submetido à limpeza com álcool 70%; Os cultivos celulares serão autoclavados antes de serem descartados; As ponteiras e eppendorfs utilizados para manipulação de DNA serão descartados em lixo separado; Os reagentes tóxicos utilizados para extração de DNA, como fenol, serão descartados juntamente com o lixo separado dos demais laboratórios da microbiologia; As leveduras transformantes serão manipuladas em cabine de fluxo laminar.

Equipe envolvida: Flávia Maria Lopes Passos (Líder); Lívia Tavares Colombo; Caio Roberto Soares Bragança; Wendel Batista da Silveira; Marisa Vieira de Queiroz; Luciano Gomes Fietto.

Resultados: Tese de Doutorado em Microbiologia Agrícola de Lívia Tavares Colombo. Metagenômica de um consorcio microbiano termofílico na detecção de genes de enzimas celuloliticas e expressão heteróloga em Kluyveromyces marxianus CCT 7735 (UFV-3).

Artigos: - Colombo, Lívia T.; Rosa, Júlio César C.; Bragança, Caio R. S.; Ignacchiti, Raphael P.; Alvim, Mariana C. T.; Silveira, Wendel B.; Queiroz, Marisa V.; Bazzolli, Denise M. S.; Passos, Flávia M. L. Construction of a Kluyveromyces lactis ku80 − Host Strain for Recombinant Protein Production: Extracellular Secretion of Pectin Lyase and a Streptavidin-Pectin Lyase Chimera. Molecular Biotechnology, v. 56, p. 319-328, 2014.

- Colombo, Lívia Tavares; de Oliveira, Marcelo Nagem Valério; Carneiro, Deisy Guimarães; de Souza, Robson Assis; Alvim, Mariana Caroline Tocantins; dos Santos, Josenilda Carlos; da Silva, Cynthia Canêdo; Vidigal, Pedro Marcus Pereira; da silveira, wendel batista; Passos, Flávia Maria Lopes. Applying functional metagenomics to search for novel lignocellulosic enzymes in a microbial consortium derived from a thermophilic composting phase of sugarcane bagasse and cow manure. Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General And Molecular Microbiology, v. 109, p. 1217-1233, 2016.

5.1.10. Design, expressão heteróloga dos genes sintéticos prM e E do vírus dengue-3 em *Pichia pastoris*, avaliação do uso em diagnóstico rápido da dengue e análise do potencial imunogênico das proteínas recombinantes

O maior alvo dos anticorpos neutralizantes contra os flavivirus é a proteína de envelope (E). A proteína E nativa é um homodímero que recobre a superfície da membrana viral. A necessidade de testes diagnósticos rápidos e baratos que possibilitem a detecção da doença mesmo nas localidades mais afastadas dos grandes centros urbanos. O presente trabalho objetiva a obtenção das proteínas prM e E do vírus *dengue-3* em grande escala a partir de leveduras *Pichia pastoris* e o uso das mesmas como imunógeno e também como antígenos para a criação de kits diagnósticos.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: Organismo receptor: *Pichia pastoris*; Organismo parental: Dengue virus II; Construção genética utilizada: cDNA do gene da proteína E, Proteína prM, proteínas NS1 do vírus da Dengue (NC_001474.2); Vetor: pPICZαA

Nível de contenção: NB-P 1. Os experimentos estão sendo realizados no Laboratório de Imunovirologia Molecular

Medidas de biossegurança adotadas: Acesso ao laboratório restrito ao pessoal credenciado junto ao Laboratório, controlado por cartão. Todas as manipulações envolvendo OGM são realizadas em câmara de fluxo laminar. O trabalho com o micro-organismo é feito em capela de fluxo vertical laminar. Todo material de trabalho utilizado como o micro-organismo, assim como, o micro-organismo são descartados após o procedimento de esterilização em autoclave, à temperatura de 121 °C por 20 minutos.

Equipe envolvida: Sergio Oliveira de Paula (Lider); Michelle Dias de Oliveira; Roberto Sousa Dias; Juliana Morais de Castro Monteiro.

Órgão financiador: FAPEMIG e CNPq.

Resultados: Tese de Doutorado em Biologia Celular e Estrutural de Michelle Dias de Oliveira. Expressão dos genes sintéticos prM e E do vírus dengue-3 em Pichia pastoris: avaliação do uso em diagnóstico da dengue e análise do potencial imunogênico das proteínas.

5.2. Projetos em andamento:

5.2.1. Identificação e Caracterização de Proteínas Envolvidas na Resposta de Plantas a Infecção por Geminivírus

NIK1 (At5g16000), NIK2 (At3g25560) e NIK3 (At1g60800) são receptores transmembranas do tipo serina/treonina cinase de *A. thaliana* que estão inseridos no grupo formado por proteínas de defesa. As proteínas NIKs (NSP-interacting kinase) foram identificadas pela sua capacidade de interagir com a proteina NSP de geminivírus. A proteína viral NSP atua inibindo as atividades de autofosforilação e de fosforilação de substratos exógenos de NIK e, portanto, acredita-se, que interfere nas vias de defesa a patógenos mediadas por esse receptor. Dessa forma, a investigação de propriedades bioquímicas de NIK se faz necessária, como a determinação de seus parâmetros cinéticos, bem como a identificação de sítios adicionais de fosforilação na proteína NIK1, bem como da interação de NIK com seus possíveis substratos e a relevância dessa interação na via de defesa antiviral mediada por NIK com utilização potencial como ferramenta de resistência de plantas a infecção viral.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: O cDNA (gene AT5G16000.1) de NIK1-1(*Arabdopsis thaliana* NSP-Interacting Kinase), sob o controle do promotor 35S e fusionado a proteína GFP (green fluorescent protein) foi clonado no vetor binário de transformação de plantas pK7FWG2.

Nível de contenção: NB-P 1. Os experimentos estão sendo realizados no Laboratório de Biologia Molecular de Plantas (BIOAGRO).

Medidas de biossegurança adotadas: 1. Acesso ao laboratório restrito ao pessoal credenciado junto ao BIOAGRO, controlado pelo pesquisador principal. 2. Todas as manipulações envolvendo PGM são

realizadas em câmara de fluxo laminar ou câmara-de-crescimento predeterminadas para esta finalidade. 3. Toda PGM mantida em casa-de-vegetação tem acesso controlado por meio de chave, e todas as flores são eliminadas na fase de botão (antes da primeira antese) a fim de impedir a disseminação de pólen. Material vegetal com finalidade de multiplicação de sementes é mantido em ambiente de contenção a fim de impedir a liberação de sementes ao meio ambiente. 4. Toda PGM é autoclavada antes do descarte, bem como o solo.

Equipe envolvida: Elizabeth Pacheco Batista Fontes (Líder); Francisco Murilo Zerbini; Wagner Campos Otoni; Francisco J. L. Aragão; Anésia Aparecida dos Santos; Elisa C. S. Carvalho; Daniela Côco.

Órgão financiador: FAPEMIG.

5.2.2. Transformação genética de *Brachypodium distichum*, *Passiflora* e *Solanum melongena*

O objetivo é avaliar possíveis modificações morfo-fisiológicas de RNAs pequenos (miRNAs) nos padrões de brotação lateral (arquitetura da planta) plantas regeneradas e aclimatizadas, bem como sobre o desenvolvimento de embriões zigóticos e somáticos de *Brachypodium distychum* e de *Solanum melongena*. Isso será realizado mediante a transformação de calos embriogênicos das duas espécies com construções contendo RNA pequenos (miR156 e miR529 de *Arabidopsis thaliana*) em *Agrobacterium tumefaciens* GV 3101, EHA 105, LBA 4404 e AGL-1. Há relatos na literatura de que esses miRNAs controlam a heteroblastia e a dominância apical, além de desenvolvimento de frutos.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: Serão utilizadas construções visando à superexpressão e silenciamento gênico de miRNAS 156 (p35S:AtMIR156b e o p35S:MIM156b) e miRNA159 (p35S:AtMIR159 e o p35S:MIM159) em Brachypodium, Passiflora e berinjela. As seguintes estirpes de *Agrobacterium tumefaciens* serão utilizadas: GV 3101, EHA 105, LBA4404 e AGL-1.

Nível de contenção: NB-P 1. Os experimentos estão sendo realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos/BIOAGRO

Medidas de biossegurança adotadas: Todo o trabalho com PGMs ainda está sendo realizado em laboratório, devidamente equipados com câmara de fluxo laminar para manuseio de material bacteriano e vegetal. Após a sua manipulação, todos os materiais incluindo microtubos, ponteiras de micropipetas, vidrarias e placas com meios de cultura são autoclavados antes de serem descartados. Uma vez obtidas plantas geneticamente modificadas in vitro, estas serão aclimatadas em casa de vegetação devidamente adaptada e em condições de confinamento, segundo Normas estabelecidas pela CTNBio.

Equipe envolvida: Wagner Campos Otoni (Líder); Fábio Tebaldi Silveira Nogueira; Marcio Gilberto Cardoso Costa; Evelyn Jardim de Oliveira; Lorena Melo Vieira; Geraldo Felipe F. e Silva.

Órgão financiador: FAPEMIG e CNPq.

5.2.3. Tolerância de plantas a estresses bióticos e abióticos

Estudos recentes indicaram que níveis elevados de BiP em *N. tabacum* e soja conferiram tolerância a estresse hídrico durante crescimento da planta. O efeito da hiperexpressão de soyBiPD no acúmulo de proteínas secretórias de defesa e no sistema antioxidativo das plantas de soja está sendo avaliado. Dado o potencial de BiP em regular a via UPR de defesa a estresse do RE e de manter o turgor foliar em plantas transgênicas submetidas a déficit hídrico, a convergências destas vias será analisada por ensaios de microarranjos em soja e consistirão na análise da expressão de milhares de cDNas nas condições referidas de estresses. Tais estudos visam a elucidação das bases moleculares das interações entre células de plantas com seu ambiente, por meio de vias de sinalização conectadas ao retículo endoplasmático.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: Região codificadora do gene soyBIPD obtido de soja, obtidos em construções em sentido senso e antisenso clonados em vetores binários sob o controle do promotor 35S do CAMV.

Nível de contenção: NB-P 1. Os experimentos estão sendo realizados no Laboratório de Biologia Molecular de Plantas (BIOAGRO).

Medidas de biossegurança adotadas: 1. Acesso ao laboratório restrito ao pessoal credenciado junto ao Bioagro, controlado pelo pesquisador principal. 2. Todas as manipulações envolvendo PGM são realizadas em câmara de fluxo laminar ou câmara-de-crescimento predeterminadas para esta finalidade. 3. Toda PGM mantida em casa-de-vegetação tem acesso controlado por meio de chave, e todas as flores são eliminadas na fase de botão (antes da primeira antese) a fim de impedir a disseminação de pólen. Material vegetal com finalidade de multiplicação de sementes é mantido em ambiente de contenção a fim de impedir a liberação de sementes ao meio ambiente. 4. Toda PGM é autoclavada antes do descarte, bem como o solo.

Equipe envolvida: Elizabeth Pacheco Batista Fontes (Líder); Francisco Murilo Zerbini; Wagner Campos Otoni; Francisco J. L. Aragão; Humberto Henrique de Carvalho; Jerusa Araújo Quintão Arantes Faria; Pedro A.B. Reis.

Órgão financiador: FAPEMIG e CNPq.

5.2.4. Aprimoramento de uma vacina de DNA para o vírus dengue-2

Este projeto tem como objetivo o aprimoramento de uma vacina de DNA recombinante para o vírus dengue-2, projeto este, que será desenvolvido em nosso laboratório em colaboração com o Laboratório de Virologia Molecular da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, visando à produção de uma vacina tetravalente para os vírus dengue. Estas vacinas são baseadas na expressão de proteínas estruturais destes vírus por DNA plasmidial com o intuito de

desenvolver uma resposta imune específica para o controle desta enfermidade. Os plasmídeos recombinantes contendo os genes das proteínas estruturais dos vírus dengue serão inoculados em camundongos, intramuscularmente ou pela via intradérmica, e estes animais serão estudados quanto ao desenvolvimento de resposta imune específica para o vírus dengue.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: Organismo receptor: *Escherichia coli*; Organismo parental: Dengue virus II; Construção genética utilizada: cDNA do gene da proteína E, Proteína prM, proteínas NS1 do vírus da Dengue (NC_001474.2); Vetor: pET22b(+).

Nível de contenção: NB-P 1. Os experimentos estão sendo realizados no Laboratório de Imunovirologia Molecular.

Medidas de biossegurança adotadas: Acesso ao laboratório restrito ao pessoal credenciado junto ao Laboratório, controlado por cartão. Todas as manipulações envolvendo OGM são realizadas em câmara de fluxo laminar. O trabalho com o micro-organismo é feito em capela de fluxo vertical laminar. Todo material de trabalho utilizado como o micro-organismo, assim como, o micro-organismo são descartados após o procedimento de esterilização em autoclave, à temperatura de 121 °C por 20 minutos.

Equipe envolvida: Sergio Oliveira de Paula (Lider); Michelle Dias de Oliveira; Roberto Sousa Dias; Juliana Morais de Castro Monteiro.

Órgão financiador: FAPEMIG e CNPq.

5.2.5. Desenvolvimento de protótipos de kits de diagnóstico rápido por imunocromatografia para Leishmaniose e Dengue para uso em grande escala e condições de campo.

O principal objetivo deste projeto é o desenvolvimento de protótipos de kits para diagnóstico rápido de Leishmaniose e Dengue, por imunocromatografia, para serem usados futuramente em testes de campo para agilização de diagnóstico em casos de suspeita destas

infecções e uso em escala maior para inquéritos epidemiológicos. Abaixo seguem os objetivos específicos deste projeto. A) Desenvolver tecnologia nacional com perspectiva de exportação. B) Oferecer alternativas nacionais inovadoras para o diagnóstico de leishmaniose e dengue que sejam mais rápidos e práticos. C) Satisfazer a necessidade do mercado e atender demanda latente da área médica e veterinária (neste último caso exclusivamente no caso da leishmaniose por ser uma zoonose). D) Fortalecer a possível comercialização da patente sobre o uso da E-NTPDases recombinantes de Leishmania sp. E) Testar os protótipos de kits de diagnóstico em um estudo retrospectivo em soroteca humana e de cães.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: Escherichia coli BL21

Nível de contenção: NB-P 1

Medidas de biossegurança adotadas: Em relação ao acesso, a área em regime de contenção será permitido somente a pesquisadores e funcionários diretamente envolvidos no trabalho, os quais serão informados previamente sobre as normas de biossegurança. A manipulação/descarte de material que entraram em contato com o microrganismo transformado será realizada seguindo os mais exigentes padrões de contenção, com recipientes destinados exclusivamente ao descarte destes materiais seguido de autoclavagem e por fim eliminação dos resíduos por incineração. A referida área de trabalho possuirá um livro de registro de informações sobre os experimentos em andamento e haverá uma sinalização na entrada do laboratório indicando a experimentação com OGMs. Todo e qualquer acidente, bem como as informações inerentes aos OGMs serão informados à CIBio da instituição.

Equipe envolvida: Juliana Lopes Rangel Fietto (Líder); Ronny Francisco de Souza; Sidimar Sossai; Marilane de Oliveira Fani Amaro; Márcia Rogéria de Almeida Lamêgo; Sérgio Oliveira de Paula.

Órgão financiador: FAPEMIG.

5.2.6. Avaliação da resposta imunológica e prevenção da infecção congênita em camundongos BALB/c imunizados com os peptídeos recombinantes rsNcSAG4 e rsNcGRA1 derivados de Neospora caninum.

Este trabalho visa produzir candidatos vacinais, desenhados a partir de proteínas de grânulo denso (envolvidos na formação do complexo apical utilizado na fixação do parasito ao hospedeiro) e de superfície do parasito (envolvidos no reconhecimento e geração de resposta imune) expressos em leveduras Komagataella (Pichia) pastoris. Em seguida, testar estes candidatos quanto ao seu potencial de geração de resposta imune celular e humoral, potencial para limitar a infecção e eliminação do parasita em animais infectados e prevenção da infecção congênita. (Modelo experimental BALB/c) Os objetivos específicos são: Expressar em leveduras Komagataella (Pichia) pastoris, os minigenes sintéticos desenhados com base nas proteínas NcGRA1 e NcSAG4 de Neospora caninum; Purificar as proteínas expressadas em sistema de exclusão molecular para execução do ensaio vacinal. Purificar as proteínas expressadas em sistema de cromatografia de coluna de afinidade para avaliação do rendimento da produção da proteína específica. Imunizar camundongos fêmeas com os peptídeos isolados e simultaneamente e avaliar a capacidade de prevenção da infecção congênita, frente a diferentes doses. Avaliar a resposta imune humoral pela produção de IgGs no soro; Avaliar a resposta imune celular por quantificação de citocinas no sobrenadante da cultura de esplenócitos. Avaliar a capacidade de reconhecimento e apresentação dos candidatos vacinais por marcação em Imunohistoquímica de linfonodos. Avaliar a capacidade de limitar a disseminação do parasita pela detecção em amostras teciduais de animais vacinados; Avaliar o potencial para evitar a

transmissão vertical pela detecção e quantificação de DNA do parasita em amostras teciduais dos filhotes.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: Organismo receptor: Komagataella (Pichia) pastoris. Organismo parental: Neospora caninum; Construção genética utilizada: minigenes sintéticos desenhados com base nas proteínas NcGRA1 e NcSAG4

Nível de contenção: NB-1

Medidas de biossegurança adotadas: Acesso permitido somente a pesquisadores e funcionários. A manipulação/descarte de material que entraram em contato com o microrganismo transformado será realizada seguindo os padrões de contenção, com recipientes destinados ao descarte destes materiais seguido de autoclavagem. Todo e qualquer acidente, bem como as informações inerentes aos OGMs serão informados à CIBio da instituição

Equipe envolvida: Marlene Isabel Vargas Viloria (Líder); Cíntia Fernandes Fidélis; Joaquin Hernán Patarroyo Salcedo; Sirley Adriana Ortiz Bedoya; Andrés Maurício Ortega Orozco; Pablo Alencar Prates Patarroyo; Larissa de Cássia Basílio

Órgão financiador: CAPES

5.2.7. Produção de hormônio recombinante bioativo glicosilado

Neste projeto propôe-se uma forma alternativa de expressão heteróloga de um hormônio utilizado em programas de inseminação artificial principalmente em fêmeas bovinas de corte devido a possibilidade de manipulação do ciclo estral e indução de superovulação. Este hormônio deve para isto estar em sua forma nativa e glicosilada. Sua produção atual pela indústria Veterinária é hoje baseada em purificação a partir de material advindo de aborto em éguas. Neste projeto propomos a produção do hormônio recombinante em um novo sistema de expressão heterólogo baseado

em eucarioto unicelular, a fim de se ter um produto de mais fácil produção e controle e de origem nacional para suprir as necessidade do mercado.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: Organismo receptor: *Leishmania tarentolae*. Organismo parental: *Bos taurus*; Construção genética utilizada: genes sintéticos desenhados com base na proteína específica do oviduto (pOSP).

Nível de contenção: NB-1

Medidas de biossegurança adotadas: Em relação ao acesso, a área em regime de contenção será permitido somente a pesquisadores e funcionários diretamente envolvidos no trabalho, os quais serão informados previamente sobre as normas de biossegurança. A manipulação/descarte de material que entraram em contato com o microrganismo transformado será realizada seguindo os mais exigentes padrões de contenção, com recipientes destinados exclusivamente ao descarte destes materiais seguido de autoclavagem e por fim eliminação dos resíduos por incineração. A referida área de trabalho possuirá um livro de registro de informações sobre os experimentos em andamento e haverá uma sinalização na entrada do laboratório indicando a experimentação com OGMs. Todo e qualquer acidente, bem como as informações inerentes aos OGMs serão informados à CIBio da instituição.

Equipe envolvida: Juliana Lopes Rangel Fietto (Líder); Tatiana Aparecida de Oliveira; Abelardo Silva Júnior; Gustavo Costa Bressan; Márcia Rogéria de Almeida Lamêgo; Bárbara Braga Ferreira.

Órgão financiador: CAPES

5.2.8. Desenho e produção de proteínas recombinantes para uso como agentes biossurfactantes

Analisar in silico a sequência primária da proteína PhaPaz quanto às suas características estruturais preditas e potencial emulsificante; - Propor adaptações na sequência original dessa proteína visando a

otimização de seu potencial emulsificante; - Padronizar processos para a expressão e recuperação da PhaPaz e suas variantes a partir de sistema heterólogo bacteriano. - Avaliar as características físico-químicas de diferentes emulsões água-óleo formadas a partir das construções propostas; - Selecionar a construção que apresente melhor potencial surfactante e avaliar como a concentração da proteína, tratamentos térmicos, o pH e a concentração salina influenciam as propriedades das emulsões formadas por ela; - Avaliar o potencial antimicrobiano da proteína selecionada; - Avaliar o uso da proteína selecionada como adjuvante, na emulsificação de óleos derivados de petróleo e na solubilização de leite em pó.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: Organismo receptor: *E. coli*. Organismo parental: *Azotobacter sp*; Construção genética utilizada: sequência primária da proteína PhaPaz.

Nível de contenção: NB-1

Medidas de biossegurança adotadas: Em relação ao acesso, a área em regime de contenção será permitido somente a pesquisadores e funcionários diretamente envolvidos no trabalho, os quais serão informados previamente sobre as normas de biossegurança. A manipulação/descarte de material que entraram em contato com o microrganismo transformado será realizada seguindo os mais exigentes padrões de contenção, com recipientes destinados exclusivamente ao descarte destes materiais seguido de autoclavagem e por fim eliminação dos resíduos por incineração. A referida área de trabalho possuirá um livro de registro de informações sobre os experimentos em andamento e haverá uma sinalização na entrada do laboratório indicando a experimentação com OGMs. Todo e qualquer acidente, bem como as informações inerentes aos OGMs serão informados à CIBio da instituição.

Equipe envolvida: Gustavo Costa Bressan (Lider); Rafael Locatelli Salgado; Fernanda Gonçalves Barbosa; Márcia Rogéria de Almeida Lamêgo; Juliana Lopes Rangel Fietto; Abelardo Silva Júnior.

Órgão financiador: Projeto Autônomo

5.2.9. Produção de kit de diagnóstico rápido para Leishmaniose canina usando antígeno recombinante e imunocromatografia por fluxo lateral

Este projeto tem como principal objetivo a produção de um protótipo de kit de diagnóstico pelo método de imunocromatografia por Fluxo Lateral (Lateral Flow Test) para Leishmaniose canina. Para isso o projeto prevê a produção heteróloga de um antígeno recombinante de agente *Leishmania infantum chagasi*, em sistema procarioto (*Escherichia coli*) e sua utilização no kit respectivo para uso em diagnóstico rápido de casos suspeitos e para uso a campo em inquéritos e vigilância epidemiológicos em população.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: Organismo receptor: *E. coli*. Organismo parental: *Leishmania infantum chagasi*; Construção genética utilizada: sequência de peptídeos de superfície (sob sigilo).

Nível de contenção: NB-1

Medidas de biossegurança adotadas: Em relação ao acesso, a área em regime de contenção será permitido somente a pesquisadores e funcionários diretamente envolvidos no trabalho, os quais serão informados previamente sobre as normas de biossegurança. A manipulação/descarte de material que entraram em contato com o microrganismo transformado será realizada seguindo os mais exigentes padrões de contenção, com recipientes destinados exclusivamente ao descarte destes materiais seguido de autoclavagem e por fim eliminação dos resíduos por incineração. A referida área de trabalho possuirá um livro de registro de informações sobre os experimentos em andamento e haverá uma sinalização na entrada do laboratório indicando a experimentação com OGMs. Todo e qualquer acidente, bem como as informações inerentes aos OGMs serão informados à CIBio da instituição.

Equipe envolvida: Juliana Lopes Rangel Fietto (Líder); Jean Carlos Heleno Campos; Márcia Rogéria de Almeida Lamêgo; Ronny Francisco de Souza.

Órgão financiador: CNPq

5.2.10. Expressão, purificação e caracterização de endoxilanases GH11 termoestáveis e avaliação das enzimas recombinantes em processos industriais

A ampliação da utilização de enzimas em processos industriais e o mercado mundial dessas macromoléculas estão em rápida expansão, visto as vantagens que esses biocatalisadores conferem. Entretanto, para aplicação biotecnológica de enzimas, é necessário que estas apresentem alta atividade e estabilidade sob as condições dos processos industriais requeridos e que sejam produzidas em grande quantidade para viabilizar economicamente sua utilização. A engenharia de proteínas associada às técnicas de clonagem vem avançando rapidamente no sentido de otimizar a produção de enzimas visando aplicação industrial.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: Organismo receptor: *E. coli*. Organismo parental: *Bacillus subtilis*; Construção genética utilizada: sequência de endoxilanases GH11.

Nível de contenção: NB-1

Medidas de biossegurança adotadas: Acesso permitido somente a pesquisadores e funcionários. A manipulação/descarte de material que entraram em contato com o microrganismo transformado será realizada seguindo os padrões de contenção, com recipientes destinados ao descarte destes materiais seguido de autoclavagem. Todo e qualquer acidente, bem como as informações inerentes aos OGMs serão informados à CIBio da instituição

Equipe envolvida: Valéria Monteze Guimarães (Líder); Sebastião Tavares de Rezende; Ronaldo Alves Pinto Nagem; Jorge Luiz Colodette;

Larissa Mattos Trevizano; Rafaela Zandonade Ventorim; Daniel Luciano Falkoski.

Órgão financiador: CNPq

5.2.11. Desenvolvimento de uma vacina tetravalente de DNA recombinante utilizando o domínio III da proteína e do vírus da dengue

OBJETIVOS GERAIS Desenvolvimento de uma vacina tetravalente de DNA recombinante utilizando o domínio III da proteína E dos vírus da dengue. OBJETIVOS ESPECÍFICOS Extração do RNA e PCR; Clonagem em vetor de clonagem; Clonagem em vetor de expressão; Seleção dos plasmídeos recombinantes; Avaliação bioquímica dos plasmídeos recombinantes.

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: Organismo receptor: *Escherichia coli*; Organismo parental: *Dengue virus II*; Construção genética utilizada: cDNA do gene utilizando o domínio III da proteína E do vírus da Dengue; Vetor: pVax

Nível de contenção: NB-P 1. Os experimentos estão sendo realizados no Laboratório de Imunovirologia Molecular

Medidas de biossegurança adotadas: Acesso ao laboratório restrito ao pessoal credenciado junto ao Laboratório, controlado por cartão. Todas as manipulações envolvendo OGM são realizadas em câmara de fluxo laminar. O trabalho com o micro-organismo é feito em capela de fluxo vertical laminar. Todo material de trabalho utilizado como o micro-organismo, assim como, o micro-organismo são descartados após o procedimento de esterilização em autoclave, à temperatura de 121 °C por 20 minutos.

Equipe envolvida: Sérgio Oliveira de Paula (Líder); Luan Prados Calegari; Eduardo de Almeida Marques da Silva; Leandro Licursi de Oliveira; Michelle Dias de Oliveira

Órgão financiador: FAPEMIG

5.2.12. Pesquisa e Desenvolvimento de kits de imunodiagnóstico por ELISA para determinação das infecções de Sarcocystis neurona, Neospora caninum e Neospora hughesi em eqüinos

Desenvolver e padronizar o diagnóstico de Mieloencefalite Protozoária Eqüina pelo método de ELISA para detecção de anticorpos contra antígenos superficiais de Sarcocystis neurona, Neospora caninum e Neospora hughesi e avaliação da viabilidade e validação do método por comparação com método considerado padrão ouro para este fim (Western Blot).

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: Organismo receptor: *E. coli*. Organismo parental: *Sarcocystis neurona, Neospora caninum e Neospora hughesi*; Construção genética utilizada: antígenos superficiais (sob sigilo)

Nível de contenção: NB-1

Medidas de biossegurança adotadas: Acesso permitido somente a pesquisadores e funcionários. A manipulação/descarte de material que entraram em contato com o microrganismo transformado será realizada seguindo os padrões de contenção, com recipientes destinados ao descarte destes materiais seguido de autoclavagem. Todo e qualquer acidente, bem como as informações inerentes aos OGMs serão informados à CIBio da instituição

Equipe envolvida: Joaquin Hernán Patarroyo Salcedo (Líder); Leandro Silva de Araújo.

Órgão financiador: CNPq

5.2.13. Purificação e caracterização do peptídeo recombinante SBm7462® anti Rhipicephalus (Boophilus) microplus de plantas

Extração e quantificação dos peptídeos recombinantes SBm7462® de plantas transgênicas; -Caracterização bioquímica dos peptídeos SBm7462®

OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto: Organismo receptor: *Arabidopsis thaliana*. Organismo parental: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*; Construção genética utilizada: gene sintético expressando o peptídeo SBm7462®

Nível de contenção: NB-1

Medidas de biossegurança adotadas: Acesso permitido somente a pesquisadores e funcionários. A manipulação/descarte de material que entraram em contato com o microrganismo transformado será realizada seguindo os padrões de contenção, com recipientes destinados ao descarte destes materiais seguido de autoclavagem. Todo e qualquer acidente, bem como as informações inerentes aos OGMs serão informados à CIBio da instituição

Equipe envolvida: Joaquin Hernán Patarroyo Salcedo (Líder); Mariana de Barros; Sidimar Sossai; Ana Paula Peconick; Bruna Alves Devens.

Órgão financiador: CNPq

6. Descrição sobre quaisquer acidentes ou agravos à saúde possivelmente relacionados a trabalhos com OGM e seus derivados e medidas de contingenciamento, controle e prevenção.

Não houve relatos de acidentes ou agravos à saúde relacionados a trabalhos com OGM no decorrer do ano de 2017.

7. Descrição sobre atividades de capacitação em biossegurança de OGM e seus derivados.

No ano de 2017 foi realizado um Seminário de Biossegurança no Bioagro. Curso Biotecnologia e Biossegurança (BQI432) para alunos de graduação da UFV. Também foram oferecidos os cursos Biossegurança de Organismos Vivos Modificados (ENT840) e Biossegurança (BQI602) para alunos de pós-graduação da UFV.

8. Descrição das medidas de biossegurança que vêm sendo adotadas e sua possível eficiência para evitar danos.

O acesso aos laboratórios é restrito ao pessoal credenciado junto ao Bioagro, controlado pelo pesquisador principal. A área de trabalho possui um livro de registro de informações sobre os experimentos em andamento e há uma sinalização na entrada dos laboratórios indicando a experimentação com OGMs. Todo e qualquer acidente, bem como as informações inerentes aos OGMs são informados à CIBio.

Todo o trabalho com OGM é realizado em laboratórios, devidamente equipados com câmara de fluxo laminar para manuseio de material bacteriano e vegetal ou câmara de crescimento. Todos os procedimentos são realizados com luvas descartáveis. O local de trabalho deve estar sempre limpo e descontaminado. Os reagentes tóxicos utilizados para extração de DNA, como fenol, são descartados separadamente e coletados pela Gerência de Resíduos e Rejeitos Tóxicos da UFV.

A manipulação e/ou descarte de material que entraram em contato com o micro-organismos transformado, incluindo microtubos, ponteiras de micropipetas, vidrarias e placas com meios de cultura são autoclavados antes de serem descartados. Todo OGM é autoclavado antes do descarte.

Em relação ao acesso a casa-de-vegetação, a área em regime de contenção é permitida somente a pesquisadores e funcionários diretamente envolvidos no trabalho com acesso controlado por meio de chave. Todas as flores são eliminadas na fase de botão (antes da primeira antese) a fim de impedir a disseminação de pólen. Todos os envolvidos no trabalho com OGM são informados previamente sobre as normas de biossegurança segundo estabelecidas pela CTNBio.

9. Citar as liberações ambientais na(s) Unidade(s) com os respectivos números dos Processos na CTNBio:

a. Concluídas: Nada consta

b. Em andamento: Nada consta

c. Suspensas: Nada consta

d. Canceladas: Nada consta

10. Relacionar os relatórios de conclusão dos experimentos de liberação planejada de OGM e seus derivados no meio ambiente que obtiveram decisão técnica e parecer favorável da CTNBio.

Nada consta no ano de 2017.

11. Anexar cópia das atas das reuniões realizadas pela CIBio.

No ano de 2017 foram realizadas 02 reuniões, e as atas constam como anexo 01.

12. Descrever as dificuldades institucionais para o bom funcionamento das atividades da CIBio.

A CIBio/UFV está devidamente alocada junto as comissões de ética animal e humana, e conta com uma secretária e espaço físico para realização de reuniões. Adequações necessárias para estão sendo realizadas pela UFV.

13. Relacionar o material importado (OGM e derivados), relacionando a quantidade importada ao projeto de pesquisa. (Nova redação dada pela Resolução Normativa 14 de 05 de fevereiro 2015).

Não houve pedido de importação (OGM e derivados) no período de 2017.

14. Informar se houve fiscalização por parte dos órgãos e entidades de registro e fiscalização. Caso afirmativo, indicar a data, equipe fiscalizadora e N.º do Termo de Fiscalização e, se houver, o N.º do Auto de Infração.

Em 2017 tivemos a visita do Sr. Carlos Henrique Coelho de Campos (Representante do Ministério da Defesa). Referente à extensão do Certificado de Qualidade em Biossegurança – CQB NB-2, A diligencia foi realizada em setembro de 2017, este processo está sob análise na CTNBio sob o número de registro SEI 01250.036380/2017-98.

15. Informar demais ocorrências que a CIBio julgar necessário relatar à CTNBio.

Nenhuma discordância as normas vigentes foram observadas em 2017.

16. Informar eventuais alterações na descrição das instalações, anexando a nova planta baixa.

Não houve alterações nas instalações. Em 2017 foram pedidas 4 extensões de CQB para novos laboratórios.

17. Informar todas as exportações e transportes no período coberto pelo relatório.

No ano de 2017 não houve exportações e transporte de OGMs pela UFV.

Data: 21/03/18

_____

Leandro Licursi de Oliveira

Presidente da CiBIO/UFV