# RELATÓRIO ANUAL DA COMISSÃO INTERNA DE BIOSSEGURANÇA CIBio-UFV – ANO 2019

**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 2019 a 31 de dezembro de 2019.

**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.
- Laboratórios de Biotecnologia Molecular I e II do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular do CCB II. Parecer CTNBio 6223/2018.
- Laboratório de Bioquímica Celular e Bioprodutos 1 (LBB1). Extrato Prévio nº 5701/2017.

Nestas unidades são desenvolvidos os seguintes projetos:

**5.1 Projetos finalizados em 2019:**

**5.1.1. 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**

**Resultados:** publicação de artigo científico DOI:10.1590/1678-41627002

**5.1.2. 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**

**Resultados:** Defesa de uma tese de doutorado e uma dissertação de mestrado (locus ufv). Publicação de 2 artigos científicos (DOI: 10.1016/j.vetpar.2009.09.036; DOI: 10.1016/j.vetimm.2005.05.004; Vacina de subunidades rSBm7462 para o controle do Rhipicephalus (Boophilus) microplus. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 30:287-292, 2017)

**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.**

**Resultado parcial:** defesa de tese de doutorado e publicação de artigo científico (doi: 10.1111/pbi.12349)

### 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.

**Resultado parcial:** projeto em andamento

**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.**

**Resultado parcial:** dissertação de mestrado e tese de doutorado em andamento

**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.**

**Resultado Parcial:** Publicação de 2 artigos científicos (doi: 10.1007/s00299-015-1753-5; doi: 10.1007/s00253-014-5963-5)

**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.**

**Resultado parcial:** Tese de doutorado em andamento

**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**

**Resultado Parcial:** não há

**5.2.7. Produção de hormônio recombinante bioativo glicosilado**

Neste projeto propõe-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**

**Resultado parcial:** Tese de doutoramento em andamento

**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**

**Resultado parcial:** Uma patente (BR 10 2015 030932 5)

**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**

**Resultado parcial:** tese de doutorado em andamento

**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**

**Resultado parcial:** um artigo publicado (doi: 10.1002/jsfa.9242)

**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**

**Resultado parcial:** Defesa de uma dissertação de mestrado (Luan P. Calegari) e publicação de um artigo (doi: 10.1186/s12951-016-0196-7)

**5.3. Projetos iniciados em 2019:**

**Não há projetos iniciados em 2019.**

**5.3.1. Produção de eCG recombinante bioativo glicosilado (EM ANDAMENTO 2020)**

Produzir em escala laboratorial o hormônio eCG recombinante bioativo glicosilado, usando o sistema comercial LEXSY baseado em expressão heteróloga constitutiva de proteínas glicosiladas em Leishmania tarentolae.

**OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto:** Organismo receptor: Leishmania tarentolae. Organismo parental: *Equus ferus* (cavalo); Construção genética utilizada: gene sintético expressando o hormônio eCG

**Nível de contenção**: NB-2

**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 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); Tiago Antonio de Oliveira Mendes; Abelardo Silva Júnior; Gustavo Costa Bressan; Lethícia Kelly Ramos Andrade; Tatiana Aparecida de Oliveira.

**Órgão financiador:** Ouro Fino Saúde Animal LTDA.

### 5.3.2. ESTUDO DO PAPEL BIOLÓGICO DA ATP DIFOSFOHIDROLASE 2 (NTPDase 2) NA VIRULÊNCIA E INFECCIOSIDADE DAS CEPAS ET E NSL DE Leishmania (Viannia) Braziliensis (EM ANDAMENTO 2021)

Leishmanioses são doenças parasitárias que acometem milhões de pessoas no mundo, associadas a pobreza, desnutrição e habitação precária. Apesar de todos os esforços no controle da doença, não existem vacinas eficazes e os tratamentos possuem alto preço e toxicidade. Sabe-se que parasitos do gênero Leishmania possuem uma grande plasticidade fenotípica, sendo capazes de evadir à resposta imune do hospedeiro o que torna complexa a busca por medidas de profilaxia e tratamento. Portanto, o conhecimento dos mecanismos moleculares que determinam a virulência e

infecciosidade do parasito é de suma importância para o desenvolvimento racional de drogas e de alternativas de prevenção, diagnóstico e tratamento da doença. Este projeto tem como objetivos avaliar a influência de polimorfismos de base única (SNP%u2019s) na atividade enzimática e função biológica da proteína NTPDase 2, buscando elucidar o papel da enzima nos processos de virulência e infecciosidade das cepas ET e NSL de Leishmania (Viannia) braziliensis.

**OGMs sendo desenvolvidos e/ou utilizados no projeto:** Organismo receptor: Leishmania (Viannia) braziliensis. Organismo parental: Leishmania (Viannia) braziliensis; Construção genética utilizada: gene sintético contendo polimorfismos de base única (SNP%u2019s) da NTPDase2

**Nível de contenção**: NB-2

**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); Nancy da Rocha Torres; João Victor Badaró de Moraes; Victor Hugo Ferraz da Silva; Gustavo Costa Bressan.

**Órgão financiador:** CAPES

**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 2019.

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

No ano de 2019 foi oferecida a disciplina (BQI602) - Biossegurança 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 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 2019.

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

No ano de 2019 foi realizada 01 reunião, e a ata consta 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).**

Em 2019 houve um pedido de importação de Leishmania infantum do Canadá para o Brasil.

Foi deferido na Ata de outubro 2019 pelo CTNBio - Processo nº 01250.019338/2019-74 a Importação - NB-2: Importação de cepas de Leishmania infantum da linhagem JPCM5 com modificações; Protocolado em 24/04/19; Extrato Prévio nº 6519/19.

**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.**

Nada consta no ano de 2019.

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

Nenhuma discordância as normas vigentes foram observadas em 2019.

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

Não houve alterações nas instalações.

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

No ano de 2019 não houve exportações e transporte de OGMs pela UFV.

**Data: 29/03/2020**

_____

Leandro Licursi de Oliveira
Presidente da CiBIO/UFV