

Curso de Biotecnologia
ACH5545 - Engenharia Genética
Atividade de Laboratório
(15/08/2024)

Proteína S de SARS-CoV-2

Sendo o plasmídeo de clonagem de 4.5 kb, que apresenta gene de resistência a ampicilina de 890 pb, Ori de 600 pb e gene lacI repressor de 1100 pb

- Desenhe os oligonucleotídeos/primers para clonagem e expressão de:

1- Proteína S de SARS-CoV-2 (3822 pb)

2- RBD da proteína S de SARS-CoV-2 (594 pb)

- Desenhe os correspondentes plasmídeos

>Sequência de nucleotídeos e aminoácidos da proteína S de SARS-CoV-2

```

atg ttt gtt ttt ctt gtt tta ttg cca cta gtc tct agt cag tgt gtt aat ctt aca acc
M F V F L V L L P L V S S Q C V N L T T
aga act caa tta ccc cct gca tac act aat tct ttc aca cgt ggt gtt tat tac cct gac
R T Q L P P A Y T N S F T R G V Y Y P D
aaa gtt ttc aga tcc tca gtt tta cat tca act cag gac ttg ttc tta cct ttc ttt tcc
K V F R S S V L H S T Q D L F L P F F S
aat gtt act tgg ttc cat gct ata cat gtc tct ggg acc aat ggt act aag agg ttt gat
N V T W F H A I H V S G T N G T K R F D
aac cct gtc cta cca ttt aat gat ggt gtt tat ttt gct tcc act gag aag tct aac ata
N P V L P F N D G V Y F A S T E K S N I
ata aga ggc tgg att ttt ggt act act tta gat tcg aag acc cag tcc cta ctt att gtt
I R G W I F G T T L D S K T Q S L L I V
aat aac gct act aat gtt gtt att aaa gtc tgt gaa ttt caa ttt tgt aat gat cca ttt
N N A T N V V I K V C E F Q F C N D P F
ttg ggt gtt tat tac cac aaa aac aac aaa agt tgg atg gaa agt gag ttc aga gtt tat
L G V Y Y H K N N K S W M E S E F R V Y
tct agt gcg aat aat tgc act ttt gaa tat gtc tct cag cct ttt ctt atg gac ctt gaa
S S A N N C T F E Y V S Q P F L M D L E
gga aaa cag ggt aat ttc aaa aat ctt agg gaa ttt gtg ttt aag aat att gat ggt tat
G K Q G N F K N L R E F V F K N I D G Y
ttt aaa ata tat tct aag cac acg cct att aat tta gtg cgt gat ctc cct cag ggt ttt
F K I Y S K H T P I N L V R D L P Q G F
tcg gct tta gaa cca ttg gta gat ttg cca ata ggt att aac atc act agg ttt caa act
S A L E P L V D L P I G I N I T R F Q T
tta ctt gct tta cat aga agt tat ttg act cct ggt gat tct tct tca ggt tgg aca gct
L L A L H R S Y L T P G D S S S G W T A
ggt gct gca gct tat tat gtg ggt tat ctt caa cct agg act ttt cta tta aaa tat aat
G A A A Y Y V G Y L Q P R T F L L K Y N
gaa aat gga acc att aca gat gct gta gac tgt gca ctt gac cct ctc tca gaa aca aag
E N G T I T D A V D C A L D P L S E T K
tgt acg ttg aaa tcc ttc act gta gaa aaa gga atc tat caa act tct aac ttt aga gtc
C T L K S F T V E K G I Y Q T S N F R V
caa cca aca gaa tct att gtt aga ttt cct aat att aca aac ttg tgc cct ttt ggt gaa
Q P T E S I V R F P N I T N L C P F G E
ggt ttt aac gcc acc aga ttt gca tct gtt tat gct tgg aac agg aag aga atc agc aac
V F N A T R F A S V Y A W N R K R I S N
tgt gtt gct gat tat tct gtc cta tat aat tcc gca tca ttt tcc act ttt aag tgt tat
C V A D Y S V L Y N S A S F S T F K C Y
gga gtg tct cct act aaa tta aat gat ctc tgc ttt act aat gtc tat gca gat tca ttt
G V S P T K L N D L C F T N V Y A D S F
gta att aga ggt gat gaa gtc aga caa atc gct cca ggg caa act gga aag att gct gat
V I R G D E V R Q I A P G Q T G K I A D
tat aat tat aaa tta cca gat gat ttt aca ggc tgc gtt ata gct tgg aat tct aac aat
Y N Y K L P D D F T G C V I A W N S N N
ctt gat tct aag gtt ggt ggt aat tat aat tac ctg tat aga ttg ttt agg aag tct aat
L D S K V G G N Y N Y L Y R L F R K S N

```

ctc aaa cct ttt gag aga gat att tca act gaa atc tat cag gcc ggt agc aca cct tgt
 L K P F E R D I S T T E I Y Q A G S T P C
 aat ggt gtt gaa ggt ttt aat tgt tac ttt cct tta caa tca tat ggt ttc caa ccc act
 N G V E G F N C Y F P L Q S Y G F Q P T
 aat ggt gtt ggt tac caa cca tac aga gta gta gta ctt tct ttt gaa ctt cta cat gca
 N G V G Y Q P Y R V V V L S F E L L H A
 cca gca act gtt tgt gga cct aaa aag tct act aat ttg gtt aaa aac aaa tgt gtc aat
 P A T V C G P K K S T N L V K N K C V N
 ttc aac ttc aat ggt tta aca ggc aca ggt gtt ctt act gag tct aac aaa aag ttt ctg
 F N F N G L T G T G V L T E S N K K F L
 cct ttc caa caa ttt ggc aga gac att gct gac act act gat gct gtc cgt gat cca cag
 P F Q Q F G R D I A D T T D A V R D P Q
 aca ctt gag att ctt gac att aca cca tgt tct ttt ggt ggt gtc agt gtt ata aca cca
 T L E I L D I T P C S F G G V S V I T P
 gga aca aat act tct aac cag gtt gct gtt ctt tat cag gat gtt aac tgc aca gaa gtc
 G T N T S N Q V A V L Y Q D V N C T E V
 cct gtt gct att cat gca gat caa ctt act cct act tgg cgt gtt tat tct aca ggt tct
 P V A I H A D Q L T P T W R V Y S T G S
 aat gtt ttt caa aca cgt gca ggc tgt tta ata ggg gct gaa cat gtc aac aac tca tat
 N V F Q T R A G C L I G A E H V N N S Y
 gag tgt gac ata ccc att ggt gca ggt ata tgc gct agt tat cag act cag act aat tct
 E C D I P I G A G I C A S Y Q T Q T N S
 cct cgg cgg gca cgt agt gta gct agt caa tcc atc att gcc tac act atg tca ctt ggt
 P R R A R S V A S Q S I I A Y T M S L G
 gca gaa aat tca gtt gct tac tct aat aac tct att gcc ata ccc aca aat ttt act att
 A E N S V A Y S N N S I A I P T N F T I
 agt gtt acc aca gaa att cta cca gtg tct atg acc aag aca tca gta gat tgt aca atg
 S V T T E I L P V S M T K T S V D C T M
 tac att tgt ggt gat tca act gaa tgc agc aat ctt ttg ttg caa tat ggc agt ttt tgt
 Y I C G D S T E C S N L L L Q Y G S F C
 aca caa tta aac cgt gct tta act gga ata gct gtt gaa caa gac aaa aac acc caa gaa
 T Q L N R A L T G I A V E Q D K N T Q E
 gtt ttt gca caa gtc aaa caa att tac aaa aca cca cca att aaa gat ttt ggt ggt ttt
 V F A Q V K Q I Y K T P P I K D F G G F
 aat ttt tca caa ata tta cca gat cca tca aaa cca agc aag agg tca ttt att gaa gat
 N F S Q I L P D P S K P S K R S F I E D
 cta ctt ttc aac aaa gtg aca ctt gca gat gct ggc ttc atc aaa caa tat ggt gat tgc
 L L F N K V T L A D A G F I K Q Y G D C
 ctt ggt gat att gct gct aga gac ctc att tgt gca caa aag ttt aac ggc ctt act gtt
 L G D I A A R D L I C A Q K F N G L T V
 ttg cca cct ttg ctc aca gat gaa atg att gct caa tac act tct gca ctg tta tca ggt
 L P P L L T D E M I A Q Y T S A L L A G
 aca atc act tct ggt tgg acc ttt ggt gca ggt gct gca tta caa ata cca ttt gct atg
 T I T S G W T F G A G A A L Q I P F A M
 caa atg gct tat agg ttt aat ggt att gga gtt aca cag aat gtt ctc tat gag aac caa
 Q M A Y R F N G I G V T Q N V L Y E N Q
 aaa ttg att gcc aac caa ttt aat agt gct att ggc aaa att caa gac tca ctt tct tcc
 K L I A N Q F N S A I G K I Q D S L S S
 aca gca agt gca ctt gga aaa ctt caa gat gtg gtc aac caa aat gca caa gct tta aac
 T A S A L G K L Q D V V N Q N A Q A L N
 acg ctt gtt aaa caa ctt agc tcc aat ttt ggt gca att tca agt gtt tta aat gat atc
 T L V K Q L S S N F G A I S S V L N D I
 ctt tca cgt ctt gac aaa gtt gag gct gaa gtg caa att gat agg ttg atc aca ggc aga
 L S R L D K V E A E V Q I D R L I T G R
 ctt caa agt ttg cag aca tat gtg act caa caa tta att aga gct gca gaa atc aga gct
 L Q S L Q T Y V T Q Q L I R A A E I R A
 tct gct aat ctt gct act aaa atg tca gag tgt gta ctt gga caa tca aaa aga gtt
 S A N L A A T K M S E C V L G Q S K R V
 gat ttt tgt gga aag ggc tat cat ctt atg toc ttc cct cag tca gca cct cat ggt gta
 D F C G K G Y H L M S F P Q S A P H G V
 gtc ttc ttg cat gtg act tat gtc cct gca caa gaa aag aac ttc aca act gct cct gcc
 V F L H V T Y V P A Q E K N F T T A P A
 att tgt cat gat gga aaa gca cac ttt cct cgt gaa ggt gtc ttt gtt tca aat ggc aca
 I C H D G K A H F P R E G V F V S N G T
 cac tgg ttt gta aca caa agg aat ttt tat gaa cca caa atc att act aca gac aac aca
 H W F V T Q R N F Y E P Q I I T T D N T
 ttt gtg tct ggt aac tgt gat gtt gta ata gga att gtc aac aac aca gtt tat gat cct
 F V S G N C D V V I G I V N N T V Y D P
 ttg caa cct gaa tta gac tca ttc aag gag gag tta gat aaa tat ttt aag aat cat aca
 L Q P E L D S F K E E L D K Y F K N H T

```

tca cca gat gtt gat tta ggt gac atc tct ggc att aat gct tca gtt gta aac att caa
S P D V D L G D I S G I N A S V V N I Q
aaa gaa att gac cgc ctc aat gag gtt gcc aag aat tta aat gaa tct ctc atc gat ctc
K E I D R L N E V A K N L N E S L I D L
caa gaa ctt gga aag tat gag cag tat ata aaa tgg cca tgg tac att tgg cta ggt ttt
Q E L G K Y E Q Y I K W P W Y I W L G F
ata gct ggc ttg att gcc ata gta atg gtg aca att atg ctt tgc tgt atg acc agt tgc
I A G L I A I V M V T I M L C C M T S C
tgt agt tgt ctc aag ggc tgt tgt tct tgt gga tcc tgc tgc aaa ttt gat gaa gac gac
C S C L K G C C S C G S C C K F D E D D
tct gag cca gtg ctc aaa gga gtc aaa tta cat tac aca taa
S E P V L K G V K L H Y T -

```

Enzimas que não clivam o gene da Proteína S: AatII, AbsI, Bcgl, BciVI, Bgll, BpII, Bpu10I, BsePI, BseYI, BsrBI, BtgZI, BtsI, Drall, Drdl, Esp3I, Fsel, FspAI, HaeII, HaeIV, Hgal, Hpy99I, KpnI, MauBI, Mfel, Mlul, NaeI, NarI, NheI, NotI, Nrul, PacI, PvuI, RsrII, SacI, SacII, Sall, SanDI, SapI, PI-Scel, Sfil, Sgfl, SgrAI, SgrDI, SmaI, SnaBI, SphI, SrfI, StuI, TaqII, Taul, XbaI, XhoI

*Em vermelho a região que corresponde ao Domínio de ligação ao receptor

Sítios de enzima para Clonagem no vetor de Expressão:

```

BamHI EcoRI StuI Sall XbaI XhoI KpnI HindIII
ATGGATCCGAATTCAAAGGCTACGTCGACGAGCTCAACTAGTGC GGCCGCTTTCGAACTCTAGAGCCTGCAGTCTCGAGGCATGCCGGTACCAAGCTTGGCTGTTTTG
M D P E F K G L R R R A Q L V R P L S N L E P A V S R H A V P S L A V L

```

BamHI: G↓GATCC

EcoRI: G↓AATTC

StuI: AGG↓CCT

Sall: G↓TCGAC

XbaI: T↓CTAGA

XhoI: C↓TCGAG

KpnI: GGTAC↓C

HindIII: A↓AGCTT