

Seminário Parcial de Acompanhamento e Avaliação

Plataforma de expressão de proteínas em células de inseto e plantas

Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal

Equipe e instituição:

Prof. Bergmann Moraes Ribeiro (Coordenador, UnB)

Prof. Tasuya Nagata (UnB)

Prof. Renato de Oliveira Resende (UnB)

Profa. Anamélia Lorenzetti Bocca (UnB)

Dr. Fernando Lucas Melo (UnB)

Dr. Fabricio da Silva Morgado (UnB)

Dr. Leonardo Assis da Silva (UnB)

Dra. Maria Elita Batista de Castro (Embrapa)

Dr. Cristiano Castro Lacorte (Embrapa)

Dr. Daniel Ricardo Sosa-Gomez (Embrapa)

Dr. Daniel Mendes Preira Ardisson-Araújo (UFSM)

Dra. Sônia Nair Bão (UnB)

Dr. José Luiz Wolff (Universidade Mackenzie)

Breve contextualização do projeto e relevância do tema



- A expressão de proteínas heterólogas em células de inseto e em plantas apresenta vantagens comparativamente aos sistemas usuais, baseados em microrganismos ou células de mamíferos em cultura.
- A possibilidade de modificações pós-traducionais e a baixo risco de contaminação por patógenos capazes de infectar o homem e outros animais são as principais vantagens deste sistema de expressão.
- Células de insetos, plantas ou células vegetais são consideradas hoje como uma poderosa ferramenta de expressão de proteínas.
- Antígenos de patógenos humanos para uso diagnóstico, vacinas, anticorpos e demais proteínas terapêuticas foram produzidas utilizando essas células ou plantas, sendo que muitas já foram comercializadas.
- Tanto células de inseto como plantas ou células de plantas possuem um risco biológico baixo para produção destes produtos biotecnológicos.
- Além disso, o sequenciamento de novos vírus de insetos e plantas poder impulsionar o desenvolvimento de novos vetores de expressão e agentes de controle de pragas.

A plant-based COVID-19 vaccine from a GlaxoSmithKline alliance with Medicago shows strong antibody response

Rupert Steiner · 2 hrs ago



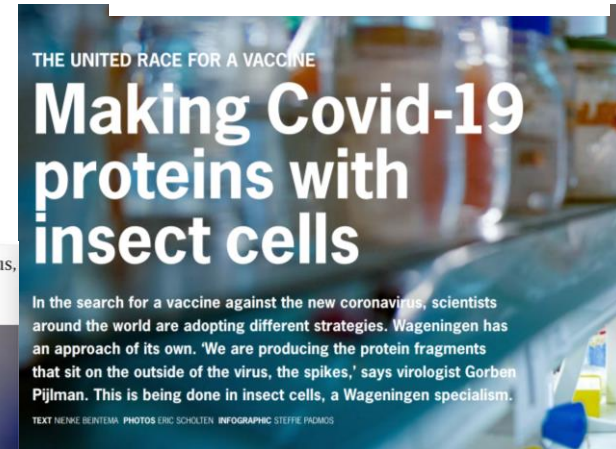
Pharmaceutical giant GlaxoSmithKline and Canadian vaccine maker Medicago [have reported promising results](#) from a Phase 2 clinical trial of their COVID-19 vaccine candidate.



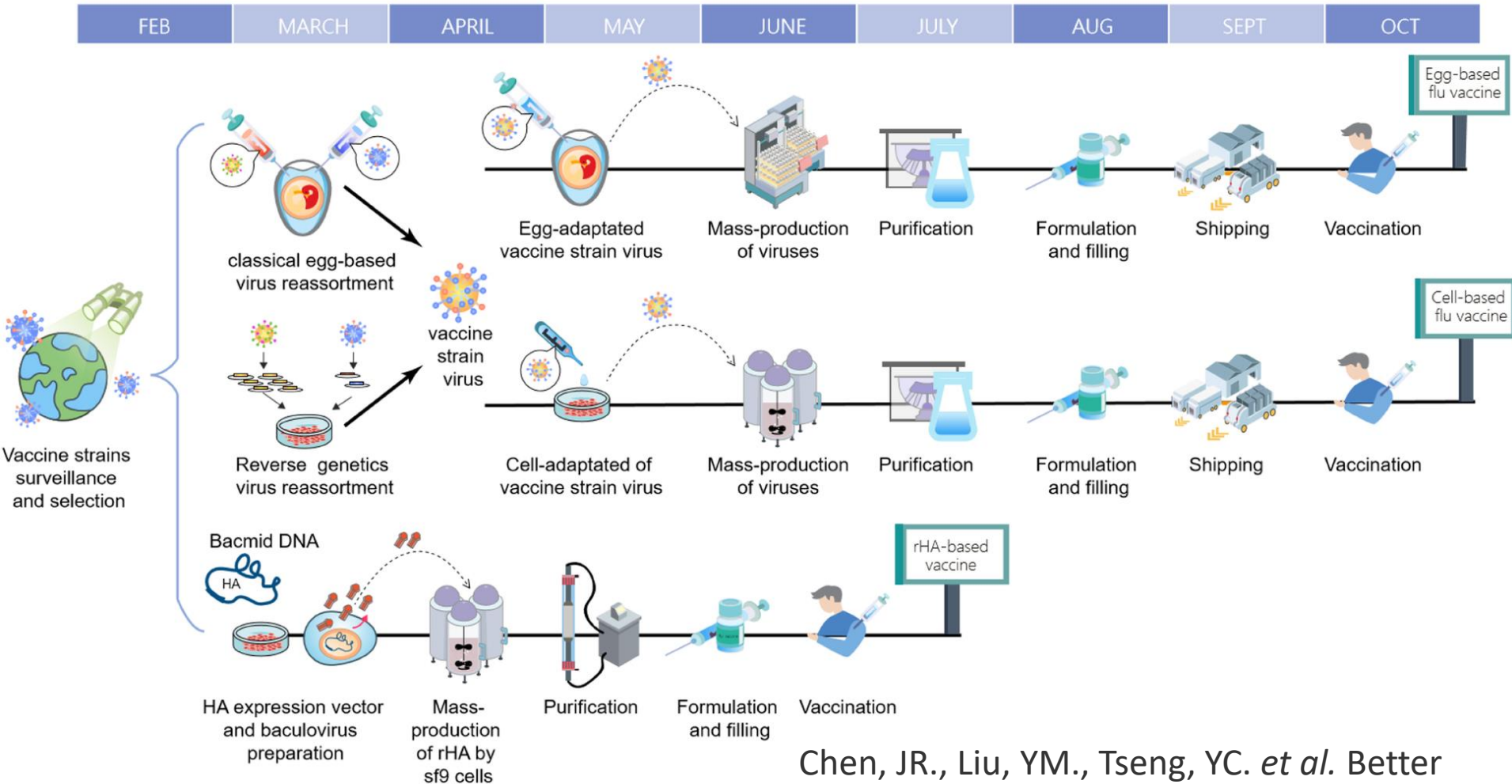
Researchers inserted a modified gene into a virus, called a baculovirus, and allowed it to infect insect cells.



Novavax vaccine



Current influenza vaccine productions



Chen, JR., Liu, YM., Tseng, YC. *et al.* Better influenza vaccines: an industry perspective. *J Biomed Sci* **27**, 33 (2020).
<https://doi.org/10.1186/s12929-020-0626-6>



List of baculoviruses and genome features from viruses recently characterized in Brazil.

#	Alphabaculoviruses	Insect host	Genome size (kb)	#ORFs	References
1	AgMNPV	<i>Anticarsia gemmatalis</i> (Hübner)	130,134	152	Oliveira <i>et al</i> 2006
2	SfMNPV	<i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith)	132,565	141	Wolff <i>et al</i> 2008
2	BmNPV	<i>Bombyx mori</i> (Linnaeus)	126,861	143	Ardissou-Araújo <i>et al</i> 2014a
3	ChinNPV	<i>Chrysodeixis includens</i> (Walker)	138,478	150	Craveiro <i>et al</i> 2015
4	CoveNPV	<i>Condylorrhiza vestigialis</i> (Guenée)	125,770	138	Castro <i>et al</i> 2017
5	DijuMNPV	<i>Dione juno juno</i> (Cramer)	122,049	153	Ribeiro <i>et al</i> 2019
6	HearSNPV	<i>Helicoverpa armigera</i> (Hübner)	129,694	146	Ardissou-Araújo <i>et al</i> 2015
7	LoobMNPV	<i>Lonomia obliqua</i> (Walker)	120,022	136	Aragão-Silva <i>et al</i> 2016
8	PeluSNPV	<i>Perigonia lusca</i> (Fabricius)	132,831	145	Ardissou-Araújo <i>et al</i> 2016b
9	RanuNPV	<i>Rachiplusia nu</i> (Guenée)	128,582	130	Trentin <i>et al</i> 2019
11	UrprNPV	<i>Urbanus proteus</i> (Linnaeus)	105,555	119	Santos <i>et al</i> 2018
12	SperNPV	<i>Spodoptera eridania</i> (Cramer)	137.373	151	Rodrigues <i>et al</i> 2020
13	BisuNPV	<i>Biston suppressaria</i> (Guenée)	121.377	131	Oliveira <i>et al.</i> 2021
Granuloviruses					
1	DisaGV	<i>Diatraea saccharalis</i> (Fabricius)	98,407	121	Ardissou-Araújo <i>et al</i> 2016a
2	ErelGV	<i>Erinnyis ello ello</i> (Linnaeus)	102,759	130	Ardissou-Araújo <i>et al</i> 2014b
3	MolaGV	<i>Mocis latipes</i> (Guenée)	134,272	145	Ardissou-Araújo <i>et al</i> 2018

Objetivos propostos x realizados

EXPRESSÃO DE PROTÉINAS DE INTERESSE (INSUMOS BIOTECNOLÓGICOS) EM CÉLULAS DE INSETOS E PLANTAS USANDO VETORES VIRAIS DERIVADOS DE INSETOS E PLANTAS

- Das 20 metas propostas no projeto, a grande maioria foi parcialmente concluída.
- Diferentes proteínas de bactérias, vírus humanos, de insetos e plantas foram expressas em células de insetos e plantas.
- Proteínas dos vírus DENV, ZIKV, CHIKV foram usadas no teste ELISA na FIOCRUZ e se mostraram promissores como insumos para diagnóstico. Outras proteínas dos vírus YFV, MAYV, Hepatite B, Hepatite Delta e SARS-CoV-2 foram expressas e estão sendo testadas como insumos para diagnóstico.
- Já foram publicados de 25 artigos relacionados ao projeto e um capítulo de livro.
- Duas dissertações e três teses foram defendidas e 9 projetos de iniciação científica foram concluídos. Uma dissertação está em andamento e tem previsão de defesa para julho de 2021.
- Dezesseis genomas de novos de vírus de insetos com potencial para uso como agentes de controle biológico ou como vetor de expressão foram sequenciados e analisados.

Materiais e Métodos

- Técnicas de clonagem e amplificação de ácidos nucleicos foram usadas para amplificação de diferentes genes dos vírus da Dengue, Zika, Chikungunya, Mayaro, Febre Amarela, Hepatite e outros genes (SARS-CoV-2);
- Esses genes foram clonados em vetores de expressão baseados em vírus de inseto (Baculovirus) e/ou plantas (Pepper ring spot vírus) construídos pelo grupo;
- Diferentes proteínas foram expressas em cultura de células de inseto e/ou plantas e purificadas usando os vetores construídos;
- Algumas proteínas foram testadas como insumos para diagnóstico;
- Vários genomas de vírus de plantas e insetos com potencial para uso como vetores de expressão (vírus de plantas e insetos) e agentes de controle biológico (vírus de inseto) foram sequenciados usando metodologia de “Next Generation Sequencing”

Atividades planejadas x realizadas

Metas

- 1) Construir vetores para expressão de proteínas heterólogas de interesse para pesquisa científica e de interesse na saúde pública e agricultura;
- 2) Expressão de proteínas derivadas de *Bacillus thuringiensis*, vírus humanos, animais e vegetais em células de inseto fusionadas ou não com a proteína do corpo de oclusão dos baculovírus;
- 3) Testar as propriedades imunológicas das proteínas heterólogas;
- 4) Testar o potencial das proteínas heterólogas como insumos para diagnóstico de doenças humanas, de animais e plantas;
- 5) Publicação de pelo menos 10 artigos científicos em revistas internacionais indexadas
- 6) Orientação de 3 alunos de doutorado, 3 de mestrado e 3 de iniciação científica;
- 7) Sequenciar o genoma de pelo menos quatro vírus de insetos.
- 8) Caracterização e análise do genoma de *Plutella xylostella* GV (PlxyGV).
- 9) Análise comparativa da organização genômica de vírus de diferentes clados da família Baculoviridae: diversidade genômica de ChinSNPV, CoveMNPV e PlxyGV, conexão genética e análises de genes específicos.
- 10) Construir vetores de TMV contendo genes de antígenos multiepítotos de vírus Dengue (DENV), Chikungunya (CHIKV) e Zika (ZIKV) e expressar estas proteínas. Avaliar antigenicidade das proteínas com soros de paciente.
- 11) Desenvolvimento de vetor viral baseado em PMMoV, utilizando o clone infeccioso, com a substituição do gene do capsídeo pelo gene da GFP.
- 12) Modificar e corrigir a sequência genômica do vetor de PMMoV, após o sequenciamento, para melhorar a eficiência da expressão de proteínas
- 13) Expressar antígenos virais humanos utilizando vetor de PMMoV
- 14) Desenvolvimento de vetor viral baseado em ToBMV, utilizando o clone infeccioso, com a substituição do gene do capsídeo pelo gene da GFP.
- 15) Modificar e corrigir a sequência genômica do vetor de ToBMV, após o sequenciamento, para melhorar a eficiência da expressão de proteínas
- 16) Expressar antígenos virais humanos utilizando vetor de ToBMV
- 17) Avaliar os antígenos expressados em plantas por ELISA com a coleção de soros da FIOCRUZ.
- 18) Construir vetores baseados no PVX contendo a GFP e fusões
- 19) Testar e validar o uso de proteínas de fusão envolvidas nas vias secretórias visando a purificação de proteínas heterólogas produzidas em plantas
- 20) Desenvolver metodologia para detecção de proteínas heterólogas em extratos de plantas por espectrometria de massas

Atividades planejadas x realizadas

BACULOVIRUSLab



Metas	Estágio atual
Meta 1	Concluído
Meta 2	Parcialmente concluído (75%)
Meta 3	Parcialmente concluído (75%)
Meta 4	Parcialmente concluído (75%)
Meta 5	Parcialmente concluído (75%)
Meta 6	Parcialmente concluído (75%)
Meta 7	Concluído
Meta 8	Concluído
Meta 9	Concluído
Meta 10	Parcialmente concluído (75%)
Meta 11	Parcialmente concluído (75%)
Meta 12	Parcialmente concluído (75%)
Meta 13	Parcialmente concluído (75%)
Meta 14	A partir de ensaios preliminares, foi concluído que esta meta é inviável
Meta 15	Parcialmente concluído (75%)
Meta 16	Parcialmente concluído (75%)
Meta 17	Parcialmente concluído (75%)
Meta 18	Não concluído pois outros vetores mais promissores como vetor de PepRSV e PMMoV foram usados.
Meta 19	Parcialmente concluído (75%)
Meta 20	A partir de ensaios preliminares, foi concluído que esta meta é inviável

Recurso aprovado x gasto

EXECUÇÃO FINANCEIRA			
	Recursos Liberados	Recursos Gastos	Saldo
Capital	35.000,00	15.684,24	19.315,76
Custeio	426.350,00	329.132,63	97.217,37
Bolsa	283.800,00	250.100,00	33.700,00
Saldo	745.150,00	594.916,87	150.233,13
Data da situação	31/07/2017	20/05/2021	20/05/2021

Resultados parciais alcançados

- Foram **geradas 25 publicações** em periódicos de circulação internacional e 1 capítulo de livro listados abaixo.
- Capítulo de livro: 1. CASTRO et al. Controle de artrópodes-praga com vírus entomopatogênicos. In: Eliana Maria Gouveia Fontes; Maria Cleria Valadares-Inglis. (Org.). Controle Biológico de Pragas da Agricultura. 1ed.Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2020, v. 1, p. 237-273.
- Publicações em periódicos de circulação internacional:
- 1. SILVA et al. **ARCHIVES OF VIROLOGY**, v. 165, p. 2293-2297, 2020.
- 2. SILVA et al. **BRAZILIAN JOURNAL OF MICROBIOLOGY** (ONLINE), v. 51, p. 827-835, 2020.
- 3. CRAVEIRO et al. **Microbiology Resource Announcements**, v. 9, p. e01501-19, 2020.
- 4. MORGADO et al. **JOURNAL OF PEST SCIENCE**, v. 93, p. 1019-1029, 2020.
- 5. SOSA-GÓMEZ et al. **NEOTROPICAL ENTOMOLOGY**, v. 49, p. 315-331, 2020.
- 6. SILVA et al. **JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY**, v. 101, p. 667-675, 2020.
- 7. RODRIGUES et al. **GENOMICS**, v. 112, p. 3903-3914, 2020.
- 8. LOPES-LUZ et al. **MOLECULAR BIOLOGY REPORTS**, v. 47, p. 7333-7340, 2020.
- 9. INGLIS et al. **ARCHIVES OF VIROLOGY**, v. 166, p. 125-138, 2020.
- 10. TAVARES-ESASHIKA et al. **Archives of Virology**, v.165, p. 367–375, 2020
- 11. VASQUES et al. **ARCHIVES OF VIROLOGY**, v. 164, p. 1753-1760, 2019.

Resultados parciais alcançados

- 12.SILVA et al. **ARCHIVES OF VIROLOGY**, p. 1677-1682,2019.
- 13. SILVA et al. **PeerJ**, v. 7, p. e6285, 2019.
- 14. FERREIRA et al. **JOURNAL OF INVERTEBRATE PATHOLOGY**, p. 23-31, 2019.
- 15. NAITO et al. **ARCHIVES OF VIROLOGY**, v. 164, p. 1907-1910, 2019.
- 16.TRENTIN et al. **VIROLOGY**, v. 534, p. 64-71, 2019
- 17. VASQUES et al. **MOLECULAR BIOLOGY REPORTS**, v. 45, p. 1, 2018.
- 18. RIBEIRO et al. **Viruses-Basel**, v. 11, p. 602, 2019.
- 19.ARDISSON-ARAUJO et al. **Viruses-Basel**, v. 10, p. 134, 201.
- 20.SANTOS et al. **VIRUS RESEARCH**, v. 249, p. 76-84, 2018.
- 21. CHAVES et al. **JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY**, p. 265-274, 2018
- 22. FISCHER et al. **Emerg Infect Dis.** 2018; v.24(5):888-892.
- 23. ABRAHÃO et al. **Nature Communications**, v. 9, p. 749, 2018
- 24. VASCONCELLOS et al. **ARCHIVES OF VIROLOGY**, v. 146, p. 1, 2019.
- 25.MORGADO et al. **Viruses-Basel**, v. 9, p. 132, 201

Resultados parciais alcançados (Formação de recursos humanos)

Mestrado

1. **Leonardo Lopes da Luz** 2017 - 2019 Mestrado em **Biologia Microbiana** (Conceito 4 na CAPES). Universidade de Brasília, UnB, Brasil. Título: EXPRESSÃO DE ANTÍGENO DE MULTIEPÍTOPO DE DENGUE E ZIKA VÍRUS UTILIZANDO PLANTA E BACULOVÍRUS, Ano de Obtenção: 2019. Orientador: Tatsuya Nagata. Coorientador: Bergmann Ribeiro. Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.
2. **Bruno Milhomem Pilati Rodrigues** (2018-2020). Produção de Virus Like Particles do vírus da febre amarela e do vírus Mayaro em células de inseto. 2020. Dissertação (Mestrado em **Patologia Molecular**, conceito 6 na CAPES) - Universidade de Brasília, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior. Orientador: Bergmann Moraes Ribeiro.

Doutorado

1. **Raquel Medeiros Vasques Bonnet** 2014 - 2018 Doutorado em **BIOTECNOLOGIA E BIODIVERSIDADE - REDE PRÓ-CENTRO-OESTE** (Conceito 4 na CAPES). Universidade de Brasília, UnB, Brasil. Título: Desenvolvimento de vetores virais para produção de proteínas recombinantes, Ano de obtenção: 2018. Orientador: Tatsuya Nagata. Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.
2. **Mayarha Patricia Dequigiovanni Baggio** (2015-2020). O uso de baculovírus como ferramenta para produção de antígenos vacinais e kits diagnósticos de doenças humanas: raiva, febre amarela, dengue e zika. 2019. Tese (Doutorado em **Patologia Molecular**, conceito 6 na CAPES) - Universidade de Brasília, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior. Orientador: Bergmann Moraes Ribeiro.
3. **Mariana Lima Tavares**. Estudo do mecanismo molecular envolvido na morte celular de plantas por Pepper mild mottle virus e Pepper ringspot virus. 2020. Tese (Pós-graduação em **Biologia Molecular**, conceito 6 na CAPES) - Universidade de Brasília



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE MEDICINA
PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA MOLÉCULAR

**Produção de *Virus Like Particles* do vírus da febre amarela e
do vírus Mayaro em células de inseto**

Bruno Milhomem Pilati Rodrigues

Brasília
2019



BACULOVIRUSLab



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA MICROBIANA

LEONARDO LOPES DA LUZ

**EXPRESSÃO DE ANTÍGENOS DE MULTIEPÍTOPO DE DENGUE E ZIKA VÍRUS
EM PLANTA E BACULOVÍRUS**

**BRASÍLIA - DF
2019**





Desenvolvimento de vetores virais para produção de proteínas recombinantes

Raquel Medeiros Vasques Bonnet

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biodiversidade da Universidade de Brasília, para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia e Biodiversidade.

Orientador: Dr. Tatsuya Nagata

Brasília, 2018



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA MOLECULAR**

O uso de baculovírus como ferramenta para produção de antígenos vacinais e kits diagnósticos de doenças humanas: raiva, febre amarela, dengue e zika

Capítulo I:

Expressão de um peptídeo imunogênico da glicoproteína do vírus da raiva na superfície da partícula viral de um baculovírus e seu potencial para uso como uma vacina de subunidade

Capítulo II:

Expressão da proteína de envelope do vírus da febre amarela fusionada à poliedrina de um baculovírus e sua análise como candidata a vacina recombinante

Capítulo III:

Expressão de proteínas NSI recombinantes dos vírus zika (ZIKV) e dengue (DENV-1) em células de inseto e seu uso como insumos para diagnóstico

Mayarha Patricia Dequigiovanni Baggio

Orientador: Bergmann Morais Ribeiro

**Brasília
2019**

Easily-purified baculovirus/insect-system-expressed recombinant HBV-surface-antigen is recognized by a Hepatitis B virus-positive patient serum

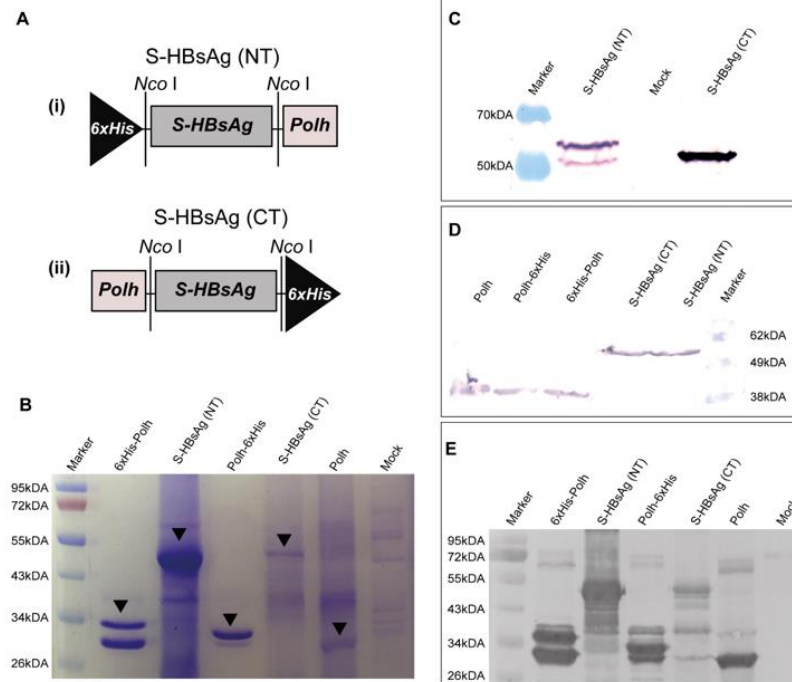
Leonardo A. Silva¹, leocbq@gmail.com

Ana Carolina Araújo¹, araujo.anacarolina@gmail.com

Taylice Leonel Batista², taylicebatista@yahoo.com.br

Bergmann M. Ribeiro^{1*}, bergmann@unb.br

Daniel M. P. Ardisson-Araújo^{2*}, daniel.araujo@ufsm.br



19

Figure 2. Analysis of the expression of the recombinant protein S-HBsAg in insect cells infected with the recombinant baculovirus vAc-6xHis-Polh, vAc-S-HBsAg-NT, vAc-Polh-6xHis, vAc-S-HBsAg-CT and AcMNPV (Polh). (A) Schematic representation of the fused versions: (i) the N-terminal (NT) version and (ii) the C-terminal (CT) version. (B) SDS-PAGE of extracts of insect cells infected with different recombinant baculoviruses (black arrowheads point the specified bands). (C) Membrane-immune-stained with anti-6xHis (Promega), (D) anti-S-HBsAg-NT and (D) anti-S-HBsAg-CT. (E) Western blot incubated with rabbit anti-IgG conjugated to alkaline phosphatase enzyme (Invitrogen) and developed using the substrate NBT/BCIP (Promega).

(Figure 4).

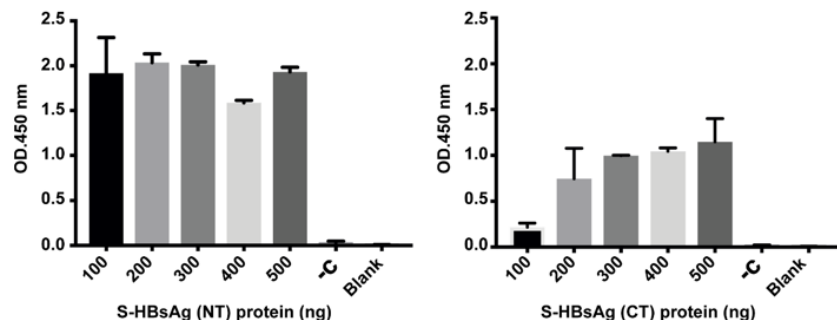


Figure 4. Direct-ELISA for the qualitative detection of Hepatitis B Surface Antibody (HBsAb) in human serum or plasma using as input quantified OBs ranging from 100 to 500 ng of either (A) the S-HBsAg-NT or (B) the S-HBsAg-CT. We set healthy human serum as negative control (-C) and Blank contains all solutions without the HBsAb. The values are expressed as mean $\pm$ S.E.M. (n=3).



Dengue and Zika virus multi-epitope antigen expression in insect cells

Leonardo Lopes-Luz¹ · Isabela Cinquini Junqueira² · Lucimeire Antonelli da Silveira¹ ·
 Bruna Ribeiro de Melo Pereira³ · Leonardo Assis da Silva³ · Bergmann Morais Ribeiro³ · Tatsuya Nagata³

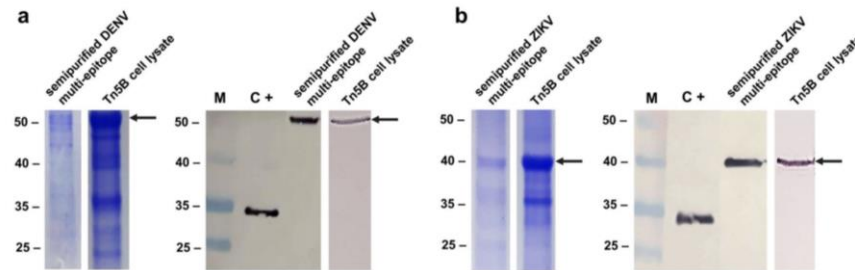
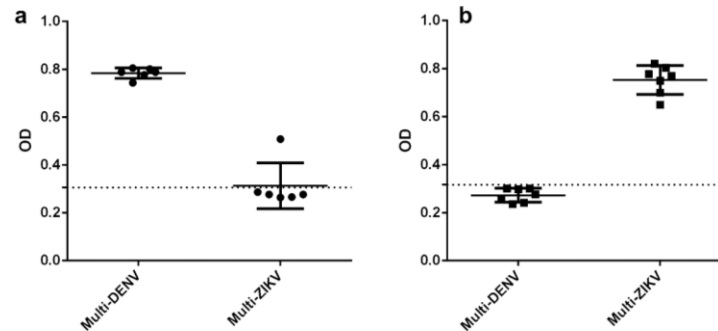


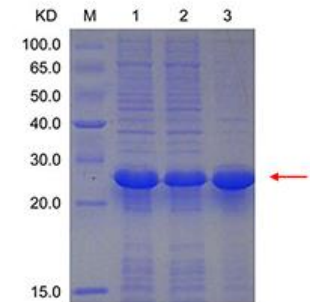
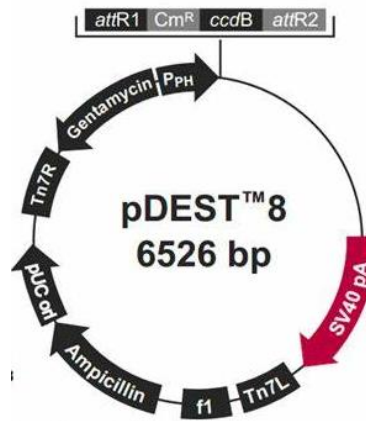
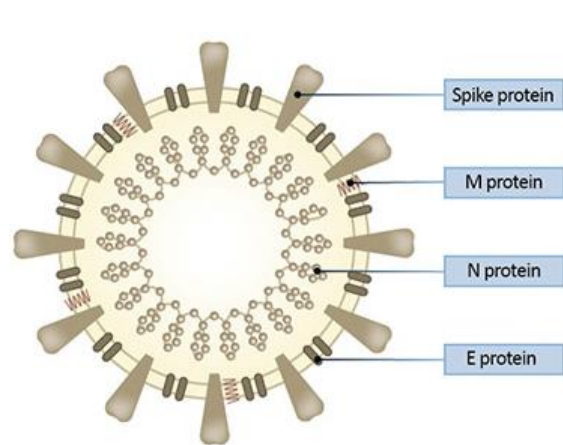
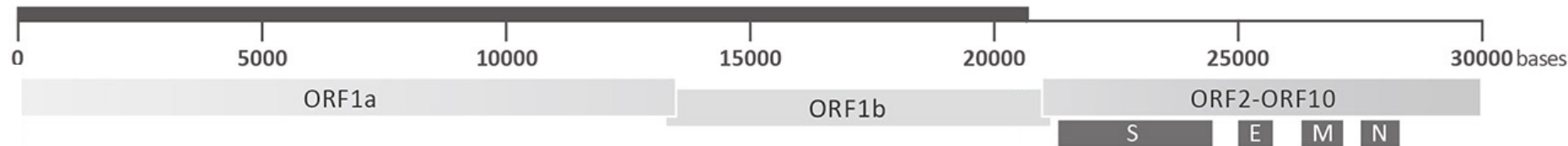
Fig. 3 Protein analysis of Tn5B cells infected with vAc-polh-DENV-6xhis and vAc-polh-ZIKV-6xhis bacmids. **a** Immunoreactive band of 50 kDa related to the DENV multi-epitope antigen, and **b** immuno-

reactive band of 40 kDa related to the ZIKV multi-epitope antigen. Positive control (C+) represents a His-Tagged tyrovirus coat protein. Molecular size (M) markers are indicated on the right (kDa)

Fig. 4 The ELISA responses of DENV and ZIKV multi-epitope antigens to pre-diagnosed sera detecting human-specific IgG. ELISA values obtained using sera positive to Dengue fever **a** and Zika fever **b** Confidence interval lines are shown. Dot lines represent cut-off value



Expression of SARS-CoV-2 structural proteins in Baculovirus Expression System and purification by chromatography



Genes
isolation

Bac-to-Bac® Baculovirus
Expression System

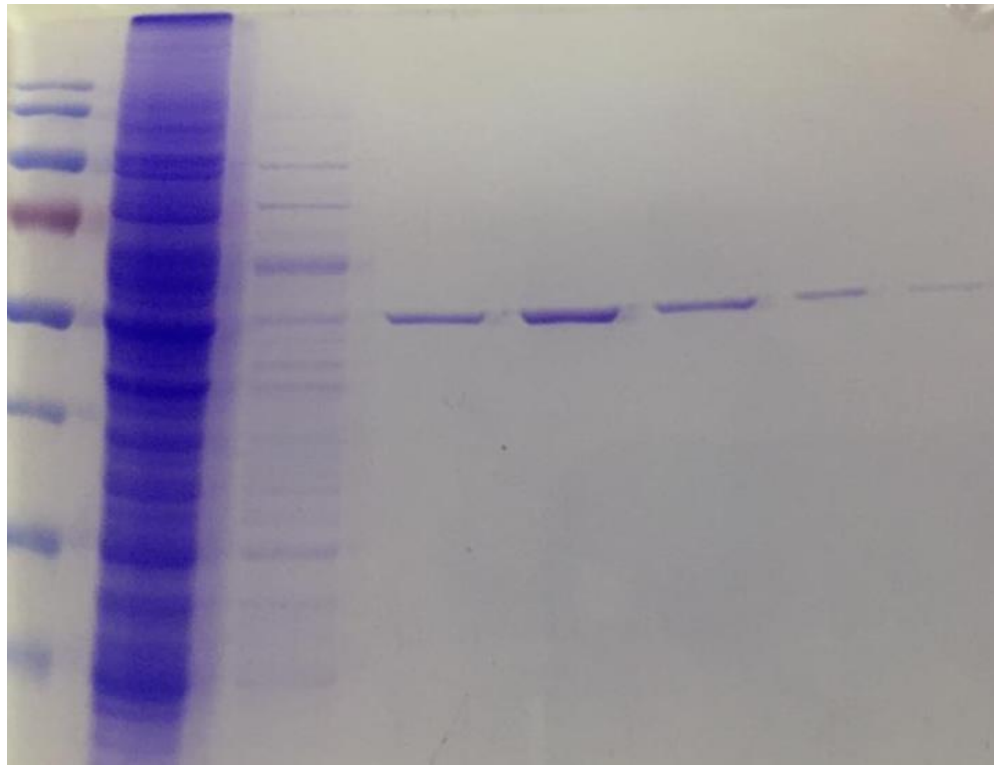
Infection & Expression

NI-NTA purification
SDS Page and Western blotting

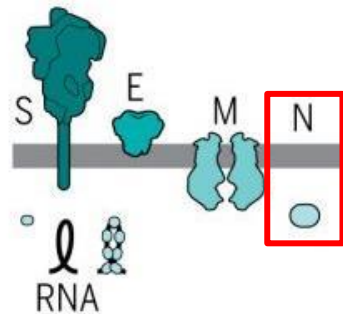
Expression das proteínas estruturais do SARS-CoV-2 em células de inseto e sua purificação por cromatografia

Protéina N

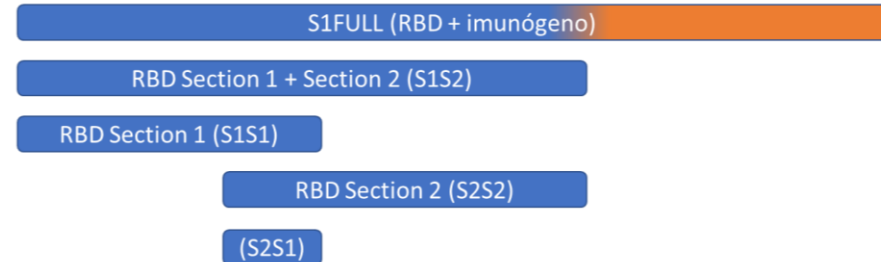
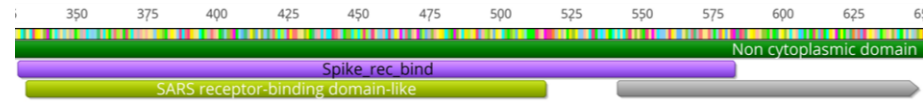
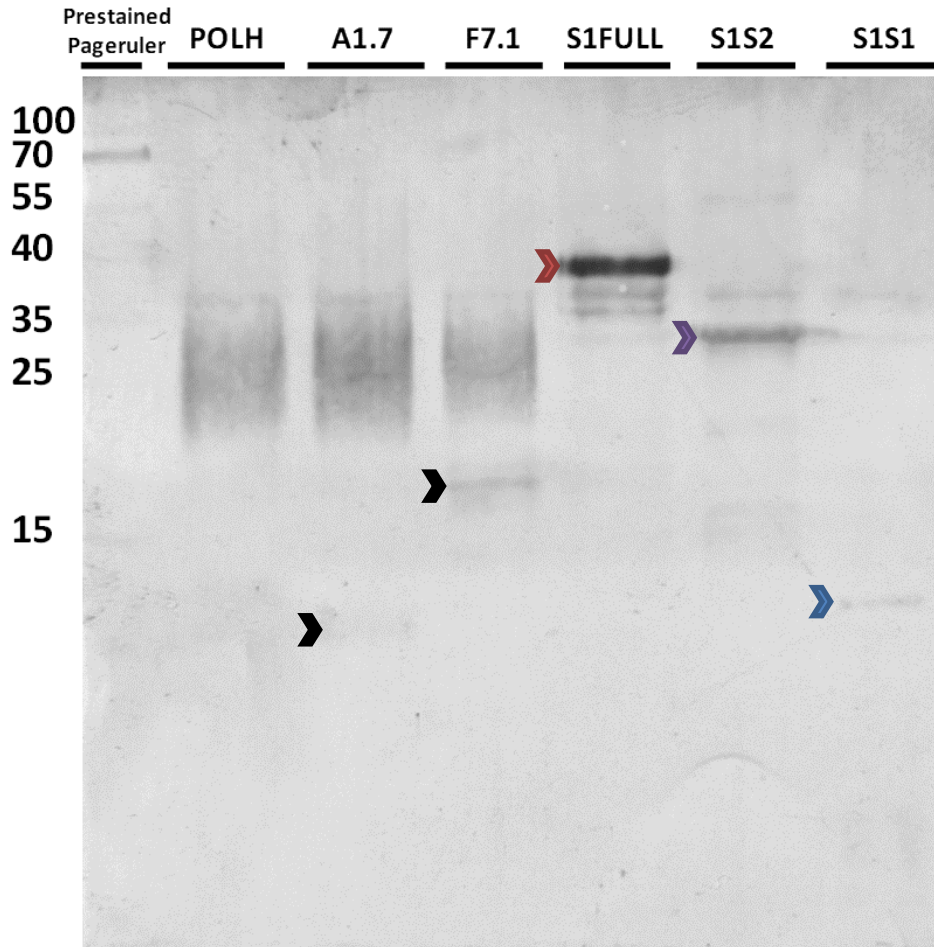
1 2 3 4 5 6 7 8



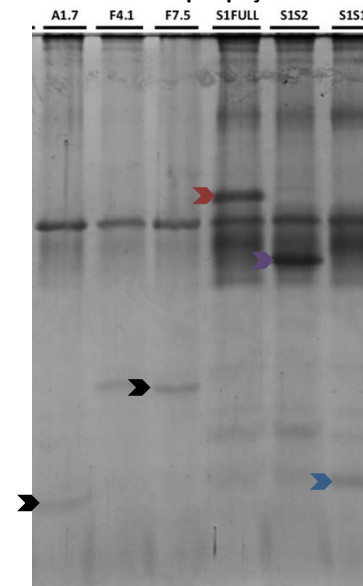
1. Marcador
2. Extrato de células
3. Flow through
4. Eluição da proteína N
5. Eluição da proteína N
6. Eluição da proteína N
- 7 e 8. Proteína N em PBS depois da diálise



Western blot (AntiS) de poliedros purificados 3 ul por poço



SDS-PAGE poliedros purificados 3 ul por poço



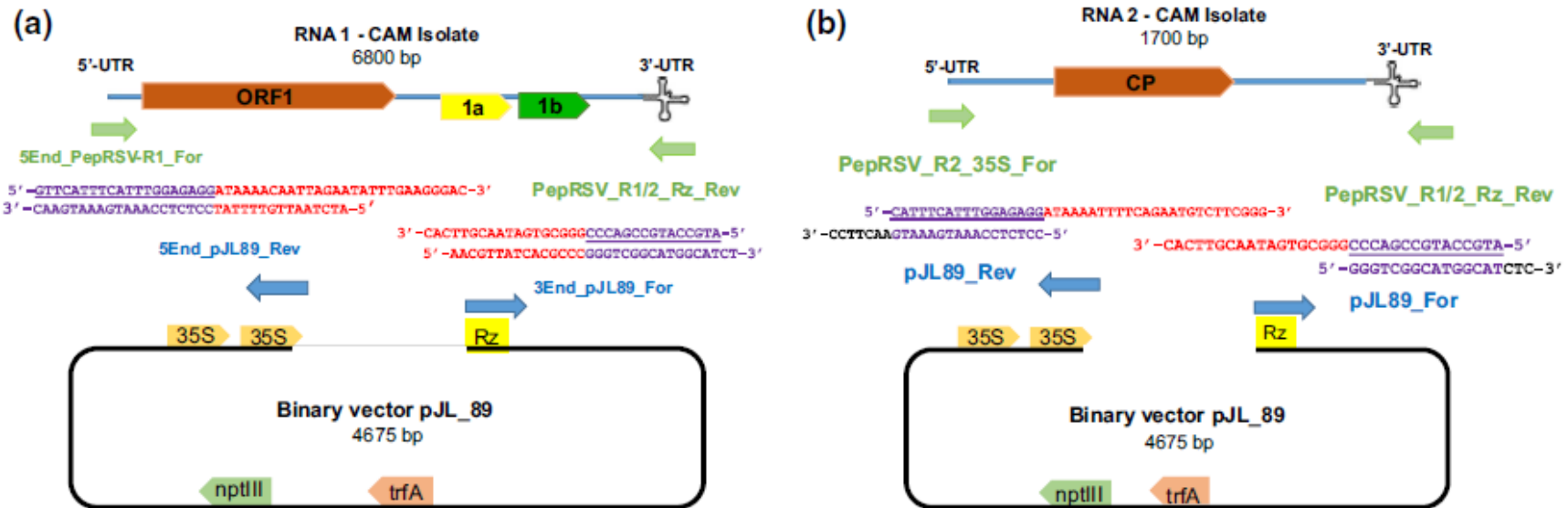
Imunógeno (FULL)

Human
Antigen (A)

Produção de proteína recombinante utilizando planta

Tatsuya Nagata
Universidade de Brasília
Cristiano Lacorte
Embrapa

Desenvolvimento de clone infeccioso de Pepper ringspot virus como base de vetor viral

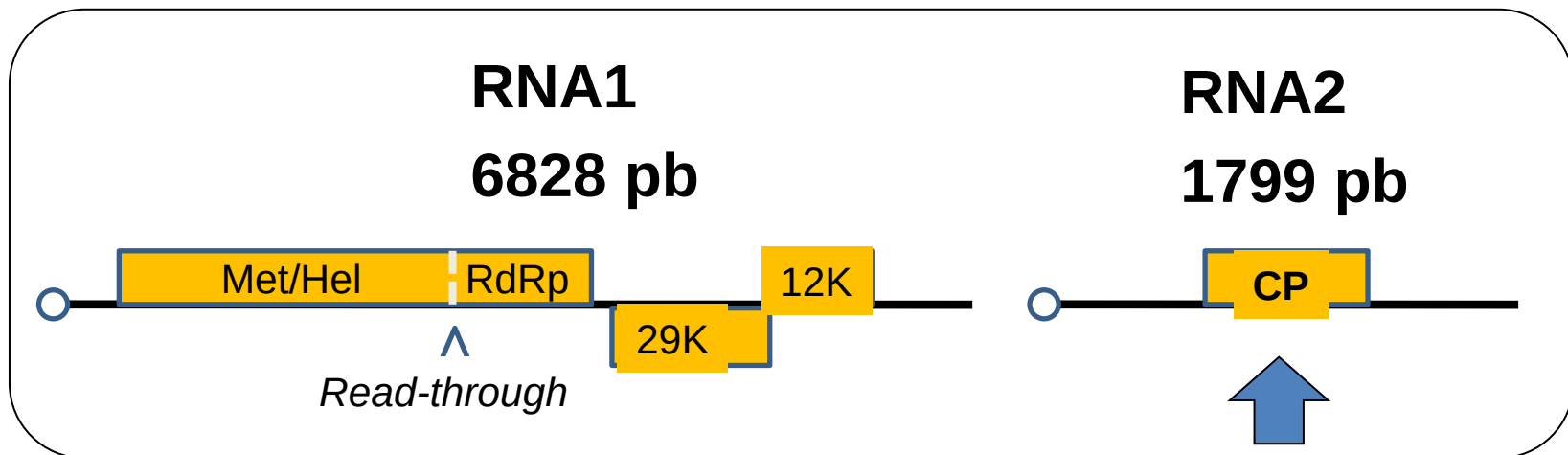


Segmentos genômicos RNA1 e RNA2 foram clonados em plasmídeo – vetor binário que replica em *Escherichia coli* e *Agrobacterium tumefaciens*

Vetor de expressão de pepper ringspot virus

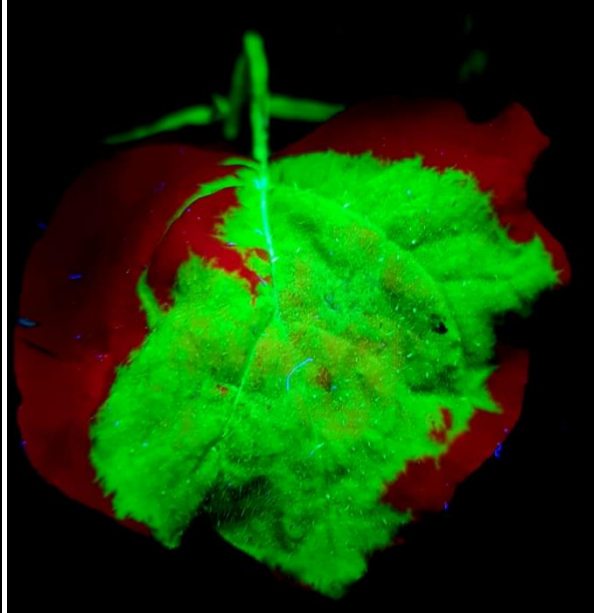
Patente em preparação

Insere Gene repórter **GFP**



**Inserir gene de interesse
Como Green Fluorescent Protein**

GFP visualizadas com Ultravioleta



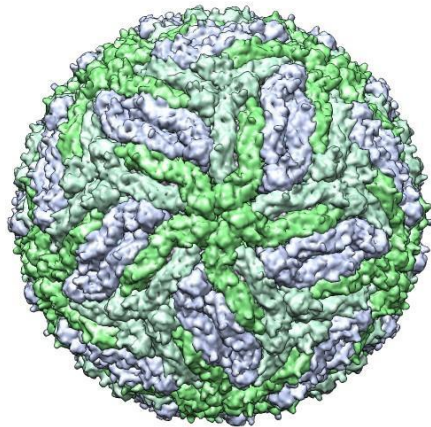
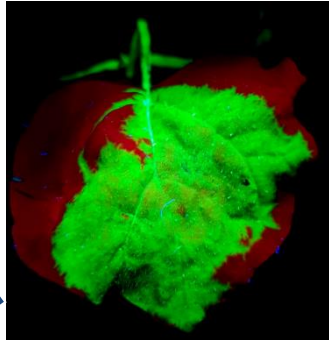
Planta de fumo expressando GFP com vetor PepRSV



**Controle negativo
Planta de fumo**

Gene de GFP foi substituído com

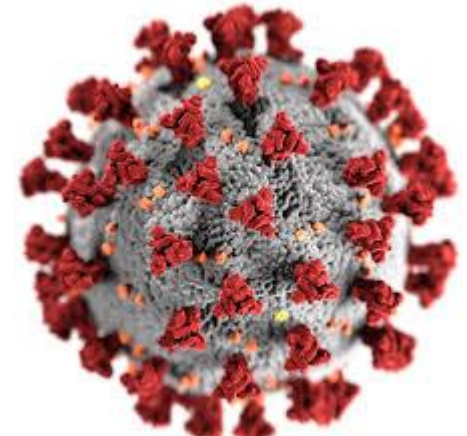
**Multiepítopo da
proteína E e NS1 da
Dengue e Zika virus**



**Spike
protein e
Nucleocapsídeo
do SARS-
CoV-2**



**Nucleocapsídeo de Watermelon
crinkle leaf-associated vírus
(WCLaV)**





Dengue and Zika virus multi-epitope antigen expression in insect cells

Leonardo Lopes-Luz¹ · Isabela Cinquini Junqueira² · Lucimeire Antonelli da Silveira¹ · Bruna Ribeiro de Melo Pereira³ · Leonardo Assis da Silva³ · Bergmann Morais Ribeiro³ · Tatsuya Nagata³

Archives of Virology (2019) 164:1677–1682
https://doi.org/10.1007/s00705-019-04214-z



Cell-line-dependent crystal morphology and sublocalization of the Thyrintina arnobia cypovirus polyhedrin expressed from a recombinant baculovirus

Leonardo A. Silva¹ · Daniel M. P. Ardisson-Araújo² · Fabricio S. Morgado¹ · André B. Horta³ · Manoel Victor Franco Lemos⁴ · Carlos F. Wilcken³ · Bergmann M. Ribeiro¹

Production of GP64-free virus-like particles from baculovirus-infected insect cells

Lorena C. S. Chaves,^{1,2} Bergmann M. Ribeiro¹ and Gary W. Blissard^{2,*}



viruses

Article

Real-Time Expression Analysis of Selected *Anticarsia gemmatilis* multiple nucleopolyhedrovirus Gene Promoters during Infection of Permissive, Semipermissive and Nonpermissive Cell Lines

Fabricio da Silva Morgado¹, Daniel Mendes Pereira Ardisson-Araújo²
and Bergmann Morais Ribeiro^{1,*}



Assembly of tomato blistering mosaic virus-like particles using a baculovirus expression vector system

Raquel Medeiros Vasques^{1,2} · Roberto Franco Teixeira Correa² · Leonardo Assis da Silva² · Rosana Blawid³ · Tatsuya Nagata¹ · Bergmann Morais Ribeiro² · Daniel M. P. Ardisson-Araújo⁴

External Quality Assessment for Zika Virus Molecular Diagnostic Testing, Brazil

Carlo Fischer, Celia Pedrosa,
Alfredo Mendrone Jr.,
Ana Maria Bispo de Filippis,
Antonio Carlos Rosário Vallinoto,
Bergmann Morais Ribeiro, Edison Luiz Durigon,
Ernesto T.A. Marques Jr., Gubio S. Campos,
Isabelle F.T. Viana, José Eduardo Levi,
Luciano Cesar Scarpelli,
Mauricio Lacerda Nogueira,
Michele de Souza Bastos,
Nathalia C. Santiago Souza,
Ricardo Khouri, Sanny M. Costa Lira,
Shirley Vasconcelos Komninakis,
Cécile Baronti, Rémi N. Charrel,
Beate M. Kümmerer, Christian Drosten,
Carlos Brites, Xavier de Lamballerie,
Matthias Niedrig, Eduardo Martins Netto,
Jan Felix Drexler

We conducted an external quality assessment of Zika virus molecular diagnostic tests in Brazil using a new Zika virus standard. Of 15 laboratories, 73% showed limited sensitivity and specificity. Viral load estimates varied significantly. Continuous quality assurance is required for adequate estimates of Zika virus-associated disease and determination of patient care.

The catastrophic Zika virus outbreak in the Americas has affected millions of persons. Brazil was the most affected country and reported ~93% of all cases of suspected Zika virus-associated congenital disease (1). Limited sensitivity and specificity of tests hampers serologic detection of Zika virus-specific antibodies in tropical regions (2). Thus, real-time reverse transcription PCR (RT-PCR) has been key for diagnosing acute Zika virus infection and for use in epidemiologic studies (3–5). However, Zika virus molecular diagnostic testing is challenged by short-term vi-





Identification and genome sequencing of RNA viruses in the eucalyptus snout beetle *Gonipteris* spp. (Coleoptera: Curculionidae)

Leonardo A. Silva¹ · Carolina Jordan² · Vanessa Rafaela de Carvalho² · Carlos F. Wilcken² · Bergmann M. Ribeiro¹

Received: 6 June 2020 / Accepted: 18 August 2020 / Published online: 25 September 2020
© Springer-Verlag GmbH Austria, part of Springer Nature 2020



GENOME SEQUENCES



Complete Genome Sequences of Seven New *Chrysodeixis includens* Nucleopolyhedrovirus Isolates from Minas Gerais and Mato Grosso States in Brazil

Saluana R. Craveiro,^{a,b} Peter W. Inglis,^a Laura Lisieux S. Monteiro,^{a,b} Luis Arthur V. M. Santos,^{a,c} Roberto C. Togawa,^a Zilda Maria A. Ribeiro,^a Bergmann M. Ribeiro,^b Maria Elita B. Castro^a

Journal of Pest Science
https://doi.org/10.1007/s10340-020-01217-7



Trichoplusia ni and *Chrysodeixis includens* larvae show different susceptibility to *Chrysodeixis includens* single nucleopolyhedrovirus per os infection

Fabrizio da Silva^a, Mariana C. S. Monteiro^a, Luis A. V. M. Santos^a, Alyssa Moreira Bernardes², Cecilia Czepak², Michael R. Strand^a, Bergmann M. Ribeiro^b



Mosaic genome evolution and phylogenetics of *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus (ChinNPV) and virulence of seven new isolates from the Brazilian states of Minas Gerais and Mato Grosso

Peter W. Inglis¹ · Luis Arthur V. M. Santos¹ · Saluana R. Craveiro¹ · Bergmann M. Ribeiro² · Maria Elita B. Castro¹

JOURNAL OF
GENERAL VIROLOGY

RESEARCH ARTICLE

Silva et al., Journal of General Virology 2020;101:667–675
DOI 10.1099/jgv.0.001413



A novel cypovirus found in a betabaculovirus co-infection context contains a poxvirus immune nuclease (poxin)-related gene

Leonardo A. da Silva¹, Daniel M. P. Ardisson-Araújo², Brenda R. de Camargo³, Marlinda Lobo de Souza^a and Bergmann M. Ribeiro^{1,*}

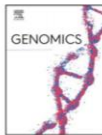
Genomics 112 (2020) 3903–3914



Contents lists available at ScienceDirect

Genomics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ygeno



Characterization of a novel alphabaculovirus isolated from the Southern armyworm, *Spodoptera eridania* (Cramer, 1782) (Lepidoptera: Noctuidae) and the evolution of *odv-e66*, a bacterium-acquired baculoviral chondroitinase gene

Daniela T. Rodrigues^a, Lenen Peterson^a, Lucas Boeni de Oliveira^a, Daniel R. Sosa-Gómez^b, Bergmann Moraes Ribeiro^c, Daniel M.P. Ardisson-Araújo^{a,*}



Fundação de Apoio à
Pesquisa do Distrito Federal

Entomopathogenic Viruses in the Neotropics: Current Status and Recently Discovered Species

DR SOSA-GÓMEZ¹, FS MORGADO², RFT CORRÊA³, LA SILVA², DMP ARDISON-ARAÚJO⁴, BMP RODRIGUES², EE OLIVEIRA⁵, RWS AGUIAR³, BM RIBEIRO²

Journal of Invertebrate Pathology 164 (2019) 23–31



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Invertebrate Pathology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jip



Biological and molecular characterization of two *Anticarsia gemmatilis* multiple nucleopolyhedrovirus clones exhibiting contrasting virulence

B.C. Ferreira^{a,b,1}, F.L. Melo^{b,1}, A.M.R. Silva^b, M.M. Sanches^a, F. Moscardi^{c,2}, B.M. Ribeiro^b, M.L. Souza^{a,*}



Genomic analyses of *Biston suppressaria* nucleopolyhedrovirus: a viral isolate obtained from the tea looper caterpillar, *Biston suppressaria* (Guenée, 1857)

Lucas Boeni de Oliveira¹ · Daniel Ricardo Sosa-Gómez² · Bergmann Moraes Ribe

Controle de artrópodes-praga com vírus entomopatogênicos

Maria Elita Batista de Castro
 Bergmann Moraes Ribeiro
 Saluana Rocha Craveiro
 Peter Ward Inglis
 Fernando Hercos Valicente



Evaluation of the anti-apoptotic activity of bovine alphaherpesvirus type 5 US3 protein kinase in insect cells using a recombinant baculovirus

Alice M. Silva¹ · Fabricio S. Morgado² · Leonardo A. Silva² · José R. J. Borges³ · Simone Perecmanis¹ · Daniel M. P. Ardisson-Araújo⁴ · Bergmann M. Ribeiro² · Fabricio S. Campos⁵ 



Molecular characterization and sequence analysis of four Brazilian rice stripe necrosis virus isolates

Daniela Domingos de Souza¹ · Ananias Pinto de Queiroz² · Fernando Sartori Pereira³ · Érico de Campos Dianese¹ · Thor Vinicius Martins Fajardo⁴ · Antonio Nhani Júnior⁵ · Douglas Lau⁶ · Leonardo Assis da Silva⁷ · Bergmann Moraes Ribeiro⁸ · Alexandre Siqueira Guedes Coelho¹ · Raimundo Wagner de Souza Aguiar² · Raquel Neves de Mello⁹ 

Novel Viruses in Mosquitoes from Brazilian Pantanal

Laura Marina Siqueira Maia ¹, Andressa Zelenski de Lara Pinto ¹,
Michellen Santos de Carvalho ¹, Fernando Lucas de Melo ², Bergmann Moraes Ribeiro ³
and Renata Dezengrini Shlessarenko ^{1,*}

Virology 534 (2019) 72–79



Contents lists available at ScienceDirect

Virology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/virology


An iflavivirus found in stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) of four different species

Ethiane R. dos Santos ^{a,1}, Luana B. Trentin ^{a,1}, Assis Ecker ^a, Leonardo A. Silva ^b, Miguel Borges ^c,
Joseph D. Mowery ^d, Bergmann M. Ribeiro ^b, Robert L. Harrison ^e, Daniel M.P. Ardisson-Araújo ^{a,*}

Virology 534 (2019) 64–71



Contents lists available at ScienceDirect

Virology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/virology


The complete genome of Rachiplusia nu nucleopolyhedrovirus (RanuNPV) and the identification of a baculoviral CPD-photolyase homolog

Luana Beló Trentin ^a, Ethiane R. Santos ^a, Admilton G. Oliveira Junior ^c, Daniel R. Sosa-Gómez ^d,
Bergmann Moraes Ribeiro ^b, Daniel M.P. Ardisson-Araújo ^{a,*}

A new virus found in garlic virus complex is a member of possible novel genus of the family *Betaflexiviridae* (order *Tymovirales*)

Leonardo A. B. Silva ^{a,*}, Athos S. Oliveira ^a, Fernando L. Melo ^a, Daniel M.P. Ardisson-Araújo ^a, Francisco V. Resende ^a, Renato O. Resende ^a and Bergmann M. Ribeiro ^b



Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

A Nymphalid-Infecting Group I Alphabaculovirus Isolated from the Major Passion Fruit Caterpillar Pest *Dione juno juno* (Lepidoptera: Nymphalidae)

Bergmann Moraes Ribeiro ¹, Ethiane Roza dos Santos ², Luana Beló Trentin ²,
Leonardo Assis da Silva ¹, Fernando Lucas de Melo ¹, Elliot Watanabe Kitajima ³ and
Daniel M. P. Ardisson-Araújo ^{2,*}

Archives of Virology
<https://doi.org/10.1007/s00705-019-04254-5>

ANNOTATED SEQUENCE RECORD



Nanopore sequencing of a novel bipartite New World begomovirus infecting cowpea

Fernanda Y. B. Naito ¹, Fernando L. Melo ¹, Maria Esther N. Fonseca ², Carlos A. F. Santos ³, Carolina R. Chanes ⁴,
Bergmann M. Ribeiro ¹, Robert L. Gilbertson ⁵, Leonardo S. Boiteux ^{1,2}, Rita de Cássia Pereira-Carvalho ¹

Melo et al. BMC Microbiology (2019) 19:134
<https://doi.org/10.1186/s12866-019-1481-z>

BMC Microbiology

RESEARCH ARTICLE

Open Access

Characterization of a bacteriophage with broad host range against strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from domestic animals

Anna Cristhina Carmine de Melo ¹, Amanda da Mata Gomes ¹, Fernando L. Melo ², Daniel M. P. Ardisson-Araújo ³,
Agueda Palmira Castagna de Vargas ⁴, Valessa Lunkes Ely ⁴, Elliot W. Kitajima ³, Bergmann M. Ribeiro ² and
José Luiz Caldas Wolff ^{1,*}

Brito et al. BMC Genomics (2018) 19:698
<https://doi.org/10.1186/s12864-018-5070-6>

BMC Genomics

RESEARCH ARTICLE

Open Access

Genome-wide diversity in temporal and regional populations of the betabaculovirus *Erinnyis ello granulovirus* (ErelGV)

A. F. Brito ¹, F. L. Melo ², D. M. P. Ardisson-Araújo ³, W. Sihler ⁴, M. L. Souza ⁴ and B. M. Rib



Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal



Genomic analysis of a cypovirus isolated from the eucalyptus brown looper, *Thyrine arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae)

André Ballerini Horta^{a,1}, Daniel Mendes Pereira Ardisson-Araújo^{b,1}, Leonardo Assis da Silva^c, Fernando Lucas de Melo^c, Fabricio da Silva Morgado^c, Manoel Victor Franco Lemos^d, Zulene Antonio Ribeiro^e, Arlindo Leal Boiça Junior^e, Carlos Frederico Wilcken^a, Bergmann Moraes Ribeiro^{c,*}



viruses



Article

A Novel Betabaculovirus Isolated from the Monocot Pest *Mocis latipes* (Lepidoptera: Noctuidae) and the Evolution of Multiple-Copy Genes

Daniel M. P. Ardisson-Araújo¹, Ana Maria Rodrigues da Silva², Fernando L. Melo², Ethiane Roza dos Santos¹, Daniel R. Sosa-Gómez³ and Bergmann M. Ribeiro^{2,*}



RESEARCH ARTICLE

Novel viruses in salivary glands of mosquitoes from sylvatic Cerrado, Midwestern Brazil

Andressa Zelenski de Lara Pinto¹, Michellen Santos de Carvalho¹, Fernando Lucas de Melo², Ana Lúcia Maria Ribeiro³, Bergmann Moraes Ribeiro², Renata Dezengrini Sihessarenko^{1,*}



ARTICLE

DOI: 10.1038/s41467-018-03168-1

OPEN

Tailed giant Tupanvirus possesses the most complete translational apparatus of the known virosp

Jônatas Abrahão¹, Leticia S. Silva¹, Leticia Santos¹, Jacques Yaacoub Bou Khalil³, Rodrigo Rodrigues², Thalita Arantes¹, Felipe Assis², Paulo Boratto², Miguel Andrade⁴, Erna Geessien Kroon², Bergmann Ribeiro^{2,4}, Ivan Bergier⁵, Guilherme de Aguiar⁶, Philippe Colson¹, Anthony Levasseur¹, Guido Kroemer^{6,7,8,9,10,11,12}, Didier Raoult¹ & Bernard La Scola¹



BACULOVIRUSLab



Genome Sequence of a Brazilian *Bacillus thuringiensis* Serovar *israeliensis* Strain

Fabício S. Campos^a, Gil R. Santos^b, Vitor L. Nascimento^b, Roberto F. T. Corrêa^a, Alex S. R. Cangussu^a, Karen Hoffmann^a, Eugênio E. Oliveira^c, Bergmann M. Ribeiro^a, Raimundo W. S. Aguiar^a

Virus Research 249 (2018) 76–84



Contents lists available at ScienceDirect

Virus Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/virusres



The complete genome sequence of the first hesperiid-infecting alphabaculovirus isolated from the leguminous pest *Urbanus proteus* (Lepidoptera: Hesperidae)

Ethiane R. Santos^a, Lucas B. Oliveira^a, Lenen Peterson^a, Daniel R. Sosa-Gómez^b, Bergmann Moraes Ribeiro^c, Daniel M.P. Ardisson-Araújo^{a,*}



Journal of Invertebrate Pathology 148 (2017) 152–161



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Invertebrate Pathology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jip



The genome sequence of *Condylorrhiza vestigialis* NPV, a novel baculovirus for the control of the Alamo moth on *Populus* spp. in Brazil

Maria Elita B. Castro^{a,1,*}, Fernando L. Melo^{b,1}, Marina Tagliari^{a,b}, Peter W. Inglis^a, Saluana R. Craveiro^{a,b}, Zilda Maria A. Ribeiro^a, Bergmann M. Ribeiro^b, Sônia N. Báb^b

de Carvalho et al. *Parasites & Vectors* (2018) 11:405
<https://doi.org/10.1186/s13071-018-2985-3>



Parasites & Vectors

RESEARCH

Open Access

Viola phlebovirus is a novel Phlebotomus fever serogroup member identified in *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) *longipalpis* Brazilian Pantanal

Michellen S. de Carvalho¹, Andressa Z. de Lara Pinto¹, Aquirya Pinheiro², Leonardo Assis da Silva¹, Bergmann M. Ribeiro¹ and Renata Dezengrini-



Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal

... Melo⁴,

