

PRODUÇÃO DE ADENOVÍRUS RECOMBINANTES EXPRESSANDO A PROTEÍNA VP3 DO GIROVÍRUS AVIÁRIO 2

Costenaro, J.G.^{1,2}; Franco, A. C.²

¹ Biomedicina, UFRGS

² Laboratório de Virologia, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS), UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil



XXV SIC
Salão Iniciação Científica



CB - Ciências Biológicas

INTRODUÇÃO

O vírus da anemia infecciosa das galinhas (CAV) codifica uma proteína chamada VP3, também conhecida como apoptina. Essa proteína é capaz de induzir apoptose em células tumorais, mas não em células não tumorais^{1,2}. Assim, essa proteína parece ser uma promissora candidata para terapia anticancerígena. O girovírus aviário 2 (AGV2), inicialmente descrito por este grupo de pesquisa, apresenta considerável similaridade genética com o CAV e codifica proteínas homólogas a este, incluindo a VP3. A comparação entre sequências de aminoácidos da VP3 dos dois vírus mostra 32% de identidade entre elas e a VP3 do AGV2 possui domínios funcionais que parecem ser importantes para sua atividade apoptótica tumor-específica³. A existência de variabilidade na região codificadora da VP3 de diferentes amostras de AGV2 foi demonstrada, indicando que variantes podem apresentar potenciais diferentes de indução de apoptose⁴. O objetivo desse trabalho é construir adenovírus recombinantes expressando a VP3 de três variantes do AGV2.

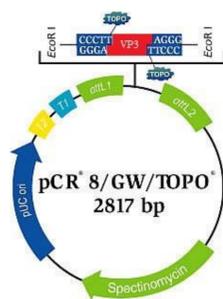
METODOLOGIA



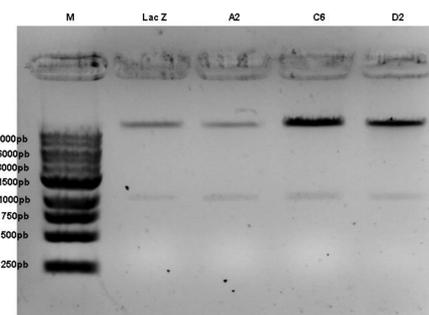
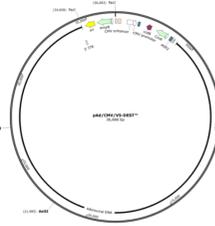
Extração de DNA de penas de galinhas



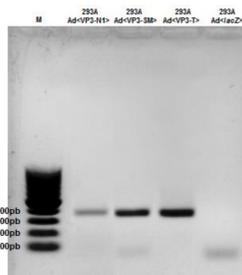
Amplificação de VP3 de três variantes de AGV2 por reação em cadeia da polimerase (PCR)



Clonagem e recombinação



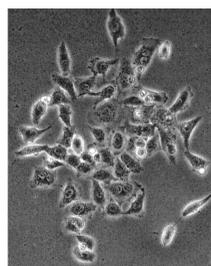
Gel de agarose: restrição enzimática



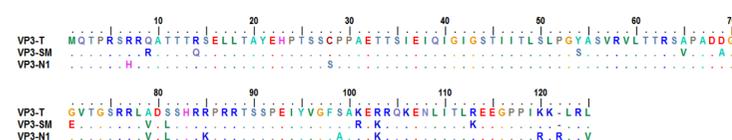
Gel de agarose: produtos de RT-PCR, obtidos a partir de RNA extraído dos adenovírus recombinantes e amplificação do gene VP3



Efeito citopático característico de adenovírus na monocamada de células 293A, 10 dias após a transfecção.



Transfecção em células 293A, usando lipofectamina



Alinhamento: sequências proteicas das variantes de AGV2 (VP3-T, VP3-SM e VP3-N1), mostrando as diferenças nos resíduos de aminoácidos

RESULTADOS E PERSPECTIVAS

Adenovírus recombinantes expressando as três variantes da VP3 do AGV2 foram gerados com êxito e serão utilizados para transduzir linhagens celulares humanas normais e tumorais a fim de avaliar seu potencial de induzir apoptose tumor-específica. Com estes experimentos, começamos a avaliar o potencial destas proteínas como novos agentes antineoplásicos.

REFERÊNCIAS

- ¹ Noteborn, M.H.M. Apoptin acts a tumor-specific killer: potentials for an anti-tumor therapy. Cellular and Molecular Biology, 2005;51:49-60
- ² Backendorf, C. et al. Apoptin: therapeutic potential of and early sensor of carcinogenic transformation. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 2008;48:143-69
- ³ Rijsewijk, F.A.M. et al. Discovery of a genome of a distant relative of chicken anemia virus reveals a new member of genus Gyrovirus. Archives of Virology, 2010;156:1097-1100
- ⁴ dos Santos, H.F. et al. Variants of the recently discovered avian gyrovirus 2 are detected in Southern Brazil and The Netherlands. Veterinary Microbiology, 2012; 155:230-36



MODALIDADE DE BOLSA

UFRGS – REUNI

