



Evento	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2014
Local	Porto Alegre
Título	Avaliação da toxicidade da proteína VP3 do girovírus aviário em células tumorais e normais utilizando vetor adenoviral
Autor	CRISTINA SANTOS DA COSTA
Orientador	ANA CLAUDIA FRANCO

O genoma do girovírus aviário 2 (AGV2) codifica três proteínas, sendo uma delas a VP3. Essa proteína é homóloga à proteína apoptina do vírus da anemia infecciosa das galinhas (CAV), para a qual diversos estudos evidenciam um potencial pró-apoptótico em células tumorais humanas. Levando-se em consideração a homologia entre essas proteínas, torna-se relevante investigar a capacidade de indução de apoptose da proteína VP3 do AGV2 em células tumorais humanas.

Vetores adenovirais recombinantes expressando três variantes da VP3 do AGV2 (pAd<VP3-T>, pAd<VP3-SM> e pAd<VP3-N1>) e o controle expressando o gene *lacZ* (pAd<LacZ>) foram utilizados na transformação de *E.coli* TOP10 (Invitrogen) e posterior clonagem. O DNA plasmidial foi então extraído por lise alcalina, e a sequência de nucleotídeos e a fase de leitura foram confirmadas por sequenciamento.

Após a clivagem com a enzima de restrição *PacI* seguida da purificação por fenol/clorofórmio e precipitação com isopropanol dos vetores adenovirais recombinantes, realizou-se a transfecção de um micrograma desses vetores em células 293A (linhagem de células embrionárias renais humanas) utilizando Lipofectamina™ 2000. Após a visualização do efeito citopático, novas passagens foram realizadas para aumentar a carga viral, e o título viral para cada variante foi calculado. A transcrição dos mRNAs foi confirmada por meio de RT-PCR.

Os adenovírus recombinantes foram inoculados em diferentes MOIs em células MRC-5 (linhagem de fibroblasto pulmonar humano) e em células A549 (linhagem de carcinoma pulmonar humano) em placas de 96 poços; como controle negativo foi utilizado tampão PBS. O método colorimétrico de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazólio (MTT; Sigma-Aldrich) foi utilizado para avaliar a viabilidade celular após a inoculação dos adenovírus recombinantes expressando as três variantes da VP3 do AGV2.

Os resultados dos testes aqui expostos revelam que os adenovírus recombinantes, cada qual expressando uma variante da VP3 do AGV2, inibem o crescimento celular tanto das células tumorais A549 quanto das células normais MRC-5. Contudo, a inibição das células A549 é significativamente superior ao verificado nas células MRC-5.