



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	AVALIAÇÃO DE EFICIÊNCIA DE PROTOCOLOS DE EXTRAÇÃO NA RECUPERAÇÃO DE PARTÍCULAS VIRAIS DE HAdV-5
Autor	GRAZIELE PRESSI
Orientador	CAROLINE RIGOTTO

AVALIAÇÃO DE EFICIÊNCIA DE PROTOCOLOS DE EXTRAÇÃO NA RECUPERAÇÃO DE PARTÍCULAS VIRAIS DE HAdV-5

Graziele Pressi¹; Caroline Rigotto²

¹ Acadêmica de Biomedicina da Universidade Feevale/ Bolsista PROBIC Fapergs

² Professora da Universidade Feevale/ Orientadora da Pesquisa

A etapa de extração de genomas virais é um dos fatores a ser considerado na recuperação dessas partículas, uma vez que perdas de ácidos nucleicos ocorrem durante a execução deste processo, induzindo a uma subestimação da concentração viral presente na amostra. Para isto, diversos protocolos são descritos, destacando-se os que utilizam colunas de sílica, tendo em vista que estes proporcionam a obtenção de material genômico com elevado grau de pureza. Estudos recentes demonstram que etapas adicionais à extração com kit padrão auxiliam em uma maior eficiência de recuperação viral, sendo estas ebulição e tratamentos prolongados com proteinase K anteriormente ao uso do kit. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de protocolos distintos de extração de suspensões de HAdV-5, visando a elaboração de técnicas capazes de extrair e recuperar genomas virais com maior efetividade. Para isto, alíquotas de suspensões de HAdV-5 (com título de $2,20 \times 10^8$ gc/5 μ L) foram submetidas a quatro condições distintas de extração, sendo estas: 1) Amostras diluídas em tampão AE e extraídas com o uso do kit comercial BioPur[®]; 2) Amostras diluídas em tampão AE, fervidas em termociclador por 10 minutos a 100°C, alocadas gelo e, logo após, acrescentados 5 μ L de Proteinase K (BioPur[®]) e inseridas por uma hora em termobloco a 37°C; 3) Condição 2, seguido de extração padrão com o uso do kit BioPur[®]; 4) Extração com kit BioPur[®] não empregando a etapa da diluição em tampão AE. As amostras foram submetidas à qPCR empregando iniciadores que amplificam parcialmente a região da proteína de capsídeo hexon. Foram realizados três experimentos independentes. As concentrações médias obtidas para os testes realizados foram de $1,99 \times 10^7$, $6,13 \times 10^6$ e $4,18 \times 10^7$ cg/5 μ L, respectivamente para as condições um, três e quatro. Destaca-se que na segunda condição foram obtidos valores nulos de recuperação de HAdV-5. Com isto, foi possível observar que, ao contrário de estudos recentes, no presente trabalho nas condições testadas a ebulição de amostras não foi eficiente para a extração do genoma de HAdV-5, sendo que amostras não diluídas em tampão AE e extraídas através do uso de kit padrão BioPur[®] foram as que apresentaram maiores índices de recuperação de partículas virais.