RESUMO - VIROLOGIA DE INVERTEBRADOS

USO DE BACULOVÍRUS COMO VETORES DE ENTREGA GÊNICA EM CÉLULAS DE MOSQUITO: EXPRESSÃO DE GLICOPROTEÍNAS DO CELL FUSION AGENT VIRUS (CFAV)

Daniel Ponchio Ferreira (danielponchioferreira@gmail.com)

Várias espécies de mosquitos são vetores de doenças como arboviroses, filariose e malária. Compreender a biologia molecular desses organismos e desenvolver estratégias de controle populacional são fundamentais. Nesse contexto, o presente trabalho visa gerar baculovírus recombinantes com eficiência de transdução aumentada em células de mosquito, pela inserção de genes codificantes de glicoproteínas derivadas dos vírus específicos de inseto, Cell Fusion Agent Virus (CFAV) e Apis mellifera Thogotovirus (ATHOV), via sistema Bac-to-Bac, para a geração dos baculovírus recombinantes em linhagens de células de lepidóptero. A eficiência de transdução será posteriormente avaliada nas linhagens de mosquito (C6/36, Aag2 e U4.4) e de lepidópteros (Sf21 e Tn5B), utilizando o gene repórter egfp sob comando de diferentes promotores constitutivamente expressos de alta atividade, sendo esses o ie1, promotor baculoviral, o promotor da poliubiquitina de Aedes aegypti e o promotor da cecropinab1, também presente em dípteros. A expressão de egfp será analisada por meio de microscopia de fluorescência e citometria de

fluxo em 24, 48 e 72 h.p.i. A confirmação da presença das proteínas recombinantes será realizada por SDS-PAGE e Western Blot de células Sf21 infectadas. Até o momento, confirmamos a clonagem do promotor ie1 à montante do gene egfp e o promotor PUb e o gene da glicoproteína do CFAV foram amplificados e estão em processo de clonagem no vetor de transferência.

Suporte: FAPDF

Palavras-chave: baculovírus recombinantes; células de mosquito; gene repórter; glicoproteínas virais; transdução viral.