

DETERMINAÇÃO DE LIGANTES COM AFINIDADE POR ÓRGÃOS ESPECÍFICOS MEDIANTE "PHAGE DISPLAY" PARA APLICAÇÃO EM TERAPIA GÊNICA. Ayala A , Salgueiro J , Giugliani R , Matte U . Laboratório de Terapia Gênica. Centro de Pesquisas . HCPA.

Um dos principais desafios da medicina molecular na era pós-genômica é o estudo das proteínas e suas interações. Peptídeos que reconheçam e interajam com os diferentes tipos celulares de forma específica prometem ser importantes ferramentas terapêuticas, diagnósticas e de pesquisa. Técnicas novas têm sido desenvolvidas para o estudo destas interações, sendo uma delas o "phage display", que consiste na manipulação do genoma de fagos filamentosos para que apresentem peptídeos exógenos fusionados a suas proteínas de superfície, formando bibliotecas conformacionais de peptídeos exógenos fusionados a suas proteínas de superfície, formando bibliotecas conformacionais de peptídeos candidatos para interagir com alvos específicos. O objetivo deste trabalho consistiu na identificação de ligantes com afinidade aumentada pelo cérebro, mediante o uso de uma biblioteca de fagos. Utilizou-se um sistema de seleção in vivo (biopanning in vivo) que estudou uma biblioteca de fagos M13 que dispõe 7 distintos aminoácidos ao acaso flanqueados por duas cisteínas (CX7C). Os fagos foram injetados por via intravenosa na cauda de camundongos CF1 de dois meses de idade. Depois de 15 minutos, os animais foram perfundidos e os órgãos foram coletados, homogeneizados e lavados para recuperação dos fagos. Assim se realizaram duas etapas, cada uma delas com 3 ciclos de biopanning. Vinte fagos recuperados do terceiro ciclo de ambas as etapas foram caracterizadas. Destes, 7(35%) apresentaram a sequência de aminoácidos CSPLNRLAC. Além disso, dois fagos (10%) apresentaram coincidência nos aminoácidos CSPKYXXTC, onde X são os aminoácidos não coincidentes, e outros dois (10%) apresentaram coincidência nos aminoácidos CEXTSXXQC. Por este motivo a sequência CSPLNRLAC foi estudada quanto a sua afinidade pelo cérebro, que demonstrou estar aumentada ($p < 0,0001$) em relação aos outros órgãos. O fato de identificar seqüências de peptídeos que apresentem afinidade pelos diferentes tecidos aumenta as ferramentas disponíveis para o endereçamento de agentes terapêuticos e diagnósticos aos diferentes órgãos. Sua utilização em terapia gênica pode contribuir para um melhor direcionamento dos vetores.