

132

CONSTRUÇÃO DE UM HERPESVIRUS BOVINO TIPO 5 COM UMA DELEÇÃO NO GENE UL41. *Marcos Schaan Profes, Franciscus Antonius Maria Rijsewijk, Paulo Michel Roehe, Ana Claudia Franco (orient.) (UFRGS).*

O herpesvirus bovino 5 (BoHV-5), um alfa herpesvírus, é uma importante causa de encefalite viral bovina no Brasil. Alfa herpesvírus possuem uma proteína, a virion host shutoff (vhs), codificada pelo gene UL41. A vhs inibe a expressão de proteínas como MHC de classe I, altera as respostas por interferon e bloqueia a ativação de células dendríticas, um dos alvos do vírus. Sendo assim, os vírus UL41 negativos podem ser, além de atenuados, indutores de uma forte resposta imune, o que os transformariam em bons candidatos para o desenvolvimento de vacinas. Com a intenção de construir um BoHV-5 atenuado, descrevemos aqui a deleção do gene UL41 no genoma de um BoHV-5 isolado de um surto de encefalite viral bovina. Para isto, as regiões flanqueadoras (5' e 3') do gene UL41 foram amplificadas e clonadas cada uma no vetor pCR2.1-TOPO. Após isso, a região 3' foi sub-clonada no vetor que continha a região 5', sendo a orientação dos fragmentos analisada por enzimas de restrição. Um clone com ambas as regiões na mesma orientação do genoma viral foi escolhido para a inserção do gene enhaced green fluorescent protein (EGFP). Este será clonado entre os fragmentos 5' e 3' do UL41. Este clone será co-transfectado com o DNA viral para permitir a recombinação e deleção do gene UL41. A co-transfecção será realizada em células de traquéia de embriões bovinos de acordo com o método de fosfato de cálcio. Vírus EGFP positivos serão selecionados em microscópio de luz UV, purificados e multiplicados. O DNA de um dos recombinantes será analisado por enzimas de restrição e posteriormente suas propriedades de crescimento in vitro serão caracterizadas. Esse vírus será usado em futuros experimentos com animais com o objetivo de caracterizar as suas propriedades imunogênicas. (PIBIC).