

| Evento | XXI FEIRA DE INICIAÇÃO À INOVAÇÃO E AO DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO – FINOVA/2012 |
|------------|---|
| Ano | 2012 |
| Local | Porto Alegre - RS |
| Título | Vacina de DNA neutralizado com lipídio catiônico |
| Autores | LIA FUKUDA CONRAD JULIANA LICHTLER |
| Orientador | ANA PAULA RAVAZZOLO |

VACINA DE DNA NEUTRALIZADO COM LIPÍDEO CATIÔNICO.

LIA FUKUDA CONRAD, Juliana Lichtler, ANA PAULA RAVAZZOLO. (UFRGS)

Feira de Iniciação à Inovação e ao Desenvolvimento Tecnológico (FINOVA) - 2012

Autor: Lia Fukuda Conrad¹ Co-autor: Juliana Lichtler¹

Orientador: Ana Paula Ravazzolo¹ Colaboradores: Marcia Barbosa² e Yan Levin²

¹Faculdade de Veterinária, ²Instituto de Física

Título: Vacina de DNA neutralizado com lipídeo catiônico

Desde 1990 têm se realizado estudos sobre a vacina de DNA. Diferente das vacinas mais comuns que contém o microrganismo atenuado ou inativado, a vacina de DNA fornece a informação genética de antígenos do microrganismo de interesse. Desta forma, o próprio indivíduo produz os antígenos induzindo uma resposta imune contra esse antígeno e, consequentemente, contra o microrganismo. Como não contém o microrganismo, a vacina de DNA apresenta vantagens em relação às outras por apresentar menos riscos de infecção, de reação pós-vacinal e de inativação da vacina por armazenamento em temperatura inadequada. Diversas formas de entrega do DNA ao organismo do indivíduo vêm sendo estudadas – inoculação de células transfectadas *in vitro*, vetores virais ou bacterianos ou mesmo plasmídeos – buscando-se uma imunização mais eficaz.

Em parceria com pesquisadores do Instituto de Física da UFRGS, o presente projeto investiga a utilização de um lipídeo carregado positivamente para neutralizar o DNA (molécula com carga negativa), auxiliando e ampliando a sua passagem pelas barreiras celulares e nucleares. Neste projeto, o antígeno "modelo" codificado pelo DNA é a GFP (*Green Fluorescent Protein* – proteína fluorescente verde), originária da água-viva *Aequorea victoria*.. O gene está inserido em um DNA circular, denominado plasmídeo, que pode ser multiplicado em bactérias. Para realização do trabalho, foi produzida grande quantidade de plasmídeos contendo o gene da GFP através de clonagem em bactérias de laboratório. Células de uma linhagem *in vitro* foram cultivadas e transfectadas com o plasmídeo, passando a produzir a proteína fluorescente verde de forma permanente após

tratamento específico, e seu extrato foi utilizado para obtenção do antígeno. Desta forma, foi possível padronizar um teste para detecção de anticorpos para GFP (ELISA). Paralelamente, camundongos foram inoculados com diferentes formas de DNA (circular e linear) associado ao lipídeo catiônico, a fim de avaliar a capacidade do complexo em induzir a formação de anticorpos. A presença de anticorpos para GFP no sangue dos camundongos, após a aplicação da vacina de DNA, demonstrará a eficácia do lipídeo como entregador eficiente da vacina de DNA. Além do sangue, foram coletados diversos órgãos dos camundongos para a extração de DNA que será submetido à qPCR, ou Real Time PCR, que permite quantificar, e não só detectar a ausência ou presença de DNA em cada amostra possibilitando, assim, determinar a biodistribuição e captura do DNA no organismo.