

Evento	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO
	CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2019
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	SEQUENCIAMENTO DE GENOMAS COMPLETOS DE
	HERPESVÍRUS BOVINOS
Autor	ANDRE FERREIRA HENNIGEN
Orientador	ANA CLAUDIA FRANCO

SEQUENCIAMENTO DE GENOMAS COMPLETOS DE HERPESVÍRUS BOVINOS

André Ferreira Hennigen¹, Paulo Michel Roehe¹ e Ana Cláudia Franco¹

¹ Laboratório de Virologia — Instituto de Ciências Básicas da Saúde — UFRGS.

Segundo dados de 2017 do IBGE, o Brasil possui um rebanho de bovinos com mais de 214 milhões de cabeças, configurando-se como o segundo maior produtor mundial de carne bovina. Os herpesvírus bovinos tipo 1 (BoHV-1) e tipo 5 (BoHV-5) são vírus pertencentes à família Herpesviridae, gênero Varicellovirus. Presentes em rebanhos de gado de corte e leite de diversos países, estes vírus são transmitidos horizontalmente por contato com secreções/aerossóis, inseminação artificial, e de maneira vertical. Frequentemente são associados a manifestações clínicas, incluindo: rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), abortos e outros problemas reprodutivos, vulvovaginite pustular/balanopostite pustular infecciosa (IPV/IPB), encefalites usualmente fatais, entre outros. Ao causarem sensíveis perdas econômicas por diminuição da produção, aumento da susceptibilidade a infecções oportunistas e morte, estes agentes infecciosos ganham considerável importância. O High-Throughput Sequencing (HTS) é uma forma de sequenciamento que permite acessar as sequências genômicas dos organismos com alto desempenho. Em relação à BoHV-1 e BoHV-5, poucos são os genomas completos disponíveis em bancos de dados. Devido a isso, existem dificuldades na realização de alguns estudos sobre a biologia desses vírus. Com o objetivo ampliar o conhecimento sobre a diversidade genética desses agentes, este trabalho propõe o sequenciamento de genomas completos de herpesvírus bovinos. A partir de um banco de amostras de vírus acumuladas ao longo de vários anos, 35 isolados BoHV-1 e BoHV-5 foram selecionados e inoculados em monocamadas de células CRIB (Célula Resistente a Infecção por BVDV) e incubados à 37°C. Quando os cultivos apresentaram Efeito Citopático (ECP) evidente em 90% da monocamada, os sobrenadantes foram então coletados e clarificados por centrifugação a 1500 x g por 30 minutos a 4 °C. Realizou-se ultracentrifugação dos sobrenadantes a 100 000 x g por 2 horas a 4 °C sobre colchão de sacarose a 25%. Os pellets de vírus assim obtidos foram ressuspendidos em água ultrapura e tratados com DNAse para eliminação de ácidos nucleicos não protegidos por capsídeo. Os DNAs extraídos pelo método de fenol foram congelados a -20 °C para uso posterior. As próximas etapas consistirão em executar quantificações dos DNAs por fluorimetria, reações em cadeia da polimerase (PCR) específicas para confirmação do tipo de vírus (BoHV-1 ou 5), verificação de grau de pureza por espectrofotometria e sequenciamento (HTS) em uma plataforma Illumina Miseq. As sequências obtidas após o sequenciamento sofrerão montagens, comparações e análises de variados enfoques com o auxílio de softwares de bioinformática.