



XXXIII SIC SALÃO INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Evento	Salão UFRGS 2021: SIC - XXXIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2021
Local	Virtual
Título	Amplificação de genoma completo de Herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5) através de long-range PCR
Autor	THAÍS MOREIRA TOTTI
Orientador	PAULO MICHEL ROEHE

Amplificação de genoma completo de Herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5) através de long-range PCR

Thaís Moreira Totti¹, Paulo Michel Roehle¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul

O Herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5), família *Herpesviridae*, tem um genoma composto por DNA fita dupla linear de cerca de 140 mil pares de bases. O BoHV-5 é o agente etiológico da meningoencefalite herpética bovina, uma causa importante de encefalites de origem infecciosa em bovinos. A disponibilidade de sequências genômicas desse vírus é de particular importância para um maior entendimento de suas relações com a espécie hospedeira, assim como para promover um melhor conhecimento das variantes em circulação nos rebanhos brasileiros. Até o presente, no entanto, somente três genomas completos de BoHV-5 foram sequenciados. O objetivo do presente trabalho foi desenvolver um sistema de amplificação genômica baseado em um conjunto de reações de PCR (*long-range* PCR; LR-PCR) que viabilizem o sequenciamento integral de genomas de BoHV-5, sem a necessidade do usual cultivo prévio de grandes volumes de suspensões virais. A extração do DNA viral foi feita a partir de 0,5 mL de suspensão viral utilizando o kit PureLink™ Viral RNA/DNA Mini Kit (Invitrogen™). Foi desenhado um painel de *primers* utilizando os programas PrimalScheme e Primer3 visando a geração de produtos com 5.000 a 10.000 pb. As amplificações foram feitas com uma reação para cada par de *primers*, utilizando a enzima Primestart GXL DNA Polymerase (TaKaRa Bio). Os produtos foram examinados por eletroforese em gel de agarose, purificados, quantificados e submetidos a sequenciamento de alto desempenho. As bibliotecas de DNA foram preparadas com o kit de preparação TruSeq Nano DNA Kit (Illumina) e sequenciadas com MiSeq Reagent Nano Kit v2 (Illumina). Foram obtidas 3.877.550 *reads*, com 82% das bases apresentando um *phred score* mínimo Q20. Após análise parcial, foi montado um genoma com 137.306pb, com 74,4% de GC. A conferência e anotação do genoma ainda estão em andamento.