

246

CONSTRUÇÃO GÊNICA PARA OTIMIZAÇÃO DA SECREÇÃO DE IL-15 POR CÉLULAS EUCARIÓTICAS. *Cássia Rodrigues Dias, Cristina Beatriz Cazabuena Bonorino (orient.) (PUCRS).*

A interleucina 15 (IL-15) é uma proteína constitutivamente expressa por células epiteliais, fibroblastos, monócitos e células dendríticas. Possui papel importante na sobrevivência de linfócitos T CD8+ de memória, envolvidos no controle da reinfecção por um microorganismo, tendo ação fundamental na resposta gerada por vacinas. A expressão da IL-15 é regulada por “splicing” alternativo, a partir do qual são produzidas duas isoformas, uma com seqüência sinal curta e que não é secretada (IL-15 seqüência sinal pequena), e outra com seqüência sinal maior que é secretada (IL-15 seqüência sinal grande). Estudos anteriores demonstraram que baixa quantidade dessa citocina é detectada no sobrenadante de células em cultura transfectadas com um plasmídeo expressando a forma IL-15 de seqüência sinal grande. Esse trabalho tem como objetivo a construção de um sistema que otimize a secreção da IL-15 para ser utilizada em estudos de proliferação, atividade de células dendríticas e linfócitos T in vitro. A obtenção da IL-15 otimizada foi realizada por estratégia de PCR, na qual a seqüência sinal normal de IL-15 murina foi substituída pela seqüência sinal de IL-2 murina. O produto obtido foi utilizado para clonagem em vetor PCR 3.1 (promotor CMV) e pVIVO-2 (promotor Ferritina). A partir disto foi feita a purificação e quantificação do DNA (Qiagen) e transfecção em células H293. A quantificação da citocina no sobrenadante das células transfectadas foi realizada através da técnica de ELISA. Os resultados parciais demonstram que a construção gênica otimizada apresenta maior capacidade de secreção quando comparada com a normal, indicando que a constituição e tamanho da seqüência sinal, assim como o promotor, influenciam diretamente na quantidade de IL-15 secretada pela célula.