

014

TRANSDUÇÃO DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS COM O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA. Flávia H. da Silva, Eduardo A. Silva, Nance B. Nardi (Lab. de Imunogenética. Depto de Genética. UFRGS).

O vírus da imunodeficiência felina (FIV) é um lentivírus associado a imunodeficiência em gatos, causando linfadenopatia e proporcionando o surgimento de infecções oportunistas. Apresenta grande similaridade com o HIV em relação as seqüências gênicas e ao ciclo replicativo. O uso de HIV em ensaios clínicos de terapia gênica, entretanto, ainda não foi permitido devido a problemas de biossegurança. O FIV, portanto, passou a ser uma alternativa mais viável, e com o mesmo potencial para transferência gênica, mantendo a capacidade de infecção de células quiescentes e de integração do genoma viral no genoma da célula hospedeira. Para aumentar seu tropismo por células humanas o vírus foi pseudotipado com a proteína G de envelope do vírus da estomatite vesicular. Suas regiões promotoras foram alteradas para possibilitar um aumento das taxas transcricionais em células humanas. As partículas virais foram obtidas a partir da transfecção transiente em linhagem celular empacotadora 293T com os plasmídeos vetor, empacotador e envelope, gerando vetores virais incapazes de replicação na célula alvo. O uso de três plasmídeos é indicado para minimizar o surgimento de vírus auxiliares replicação-competentes por eventos de recombinação. O transgene expresso neste sistema é o gene repórter GFP, codificando uma proteína que emite fluorescência verde quando irradiada com luz UV. Após determinação dos títulos virais as células alvo (células tronco hematopoéticas-CD34+ de sangue de cordão umbilical humano) serão submetidas a experimentos de transferencia gênica. Após a transdução avalia-se a expressão do transgene e a manutenção desta em ensaios clonogênicos, através de citometria de fluxo e microscopia de fluorescência. (Fapergs, CNPq, PRONEX).