



REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR) PARA OBTENÇÃO DO GENE DA GLICOPROTEÍNA S1 DO VÍRUS DA BRONQUITE INFECCIOSA DAS GALINHAS

Autor(es): FINGER, Paula Fonseca; MUNHOZ, Livia Silveira; SIEDLER, Bianca Sica; VILELA, Camila de Oliveira; CASTRO, Clarissa Caetano; DUMMER, Luana Alves; LEITE, Fábio Pereira Leivas; ESTEVES, Paulo Augusto; VARGAS, Gilberto D'Ávila; HÜBNER, Silvia de Oliveira

Apresentador: Paula Fonseca Finger

Orientador: Sílvia de Oliveira Hübner

Revisor 1: Telmo Vidor

Revisor 2: Geferson Fischer

Instituição: Universidade Federal de Pelotas

Resumo:

A Bronquite Infecciosa (BI) é uma doença viral de caráter agudo, que causa grandes prejuízos à avicultura industrial. O vírus acomete aves de todas as idades, ocasionando principalmente doença respiratória, com acentuada queda na produção de ovos em poedeiras e matrizes. Dentre as 4 proteínas estruturais que são codificadas pelo vírus, a S1 é a principal indutora da resposta imune protetora. Este estudo teve como objetivo a obtenção do gene da glicoproteína S1 do vírus da BI para posterior clonagem em vetor de expressão pPICZalphaB de *Pichia pastoris*. Para tanto, clones recombinantes de *Escherichia coli* transformadas com vetor TOPO contendo o gene da glicoproteína S1 de duas amostras de campo do VBI, e identificados como 38/49 e 212 foram propagados em meio Luria Bertani e tiveram o DNA plasmidial extraído de acordo com a técnica de extração Midiprep. A PCR foi realizada em uma solução contendo aproximadamente 25 ng de DNA (2 µL) e 23 µL de um mix, consistindo de 0,2 mM de dNTP, 5 unidades de Taq DNA polimerase, Tampão de Reação (1x), 1,5 mM de MgCl₂ e 10 pmol de cada primer. A amplificação consistiu em 30 ciclos de 94°C por 1 min, 58°C por 1 min e 72°C por 1 min. Após a amplificação do DNA, uma alíquota de 5 µL de cada amostra amplificada foi submetida à eletroforese em gel de agarose 0,8%, com adição de 3 µL de Gel-Red e 2 µL de tampão de amostra por alíquota. A eletroforese foi realizada com voltagem constante de 140 V durante 2 horas e a visualização das bandas foi realizada em transiluminador ultravioleta com um comprimento de onda de 250 nm. A amplificação obtida foi de aproximadamente 1.046 pares de bases, os quais correspondem aos descritos na literatura. A amostra 212, porém, revelou uma banda maior, que posteriormente será sequenciada para que se explique a diferença obtida na PCR. Os resultados alcançados revelaram a presença do gene da glicoproteína S1, possibilitando, assim, que próximos passos sejam executados a fim de que o gene se expresse em levedura de *Pichia pastoris*.