

ISOLAMENTO DE VÍRUS GIGANTES EM AMEBAS DO LAGO GUAÍBA, RIO GRANDE DO SUL.

Nathalia Rammé Medeiros de Albuquerque^{1, 2},
Paulo Michel Roehe² (Orientador).

1 Biomedicina, UFRGS
2 Laboratório de Virologia, UFRGS



Introdução

As amebas de vida livre são protistas presentes no solo, oceanos, rios e lagos que podem carrear vírus. Os vírus gigantes, do grupo de vírus de DNA grande núcleo-citoplasmáticos, são associados a protistas. Eles pertencem à ordem *Megavirales*, possuem DNA dupla-fita e medem entre 200 nm a 1000 nm. O primeiro vírus gigante foi descoberto em 2003, o *Acanthamoeba polyphaga mimivirus*; desde então diversos vírus têm sido isolados em *Acanthamoeba* spp. a partir de diferentes amostras ambientais.

Objetivo

O objetivo deste trabalho foi isolar vírus gigantes em amostras de mexilhões dourados coletados no Lago Guaíba, Rio Grande do Sul.

Resultados e discussão

O efeito citopático (Figura 1) observado foi o arredondamento celular e agrupamentos em linha, aproximadamente 24h após inoculação. Os resultados da MET (figura 2) revelaram a presença de partículas virais com diâmetro de 200 nm e capsídeo facetado. O resultado da PCR gerou um amplicon do tamanho esperado com base no gene da DNA polimerase. O DNA extraído foi submetido ao sequenciamento de nova geração para montagem do genoma completo. As análises de bioinformática (montagem do genoma, anotação e árvores filogenéticas) estão em construção.

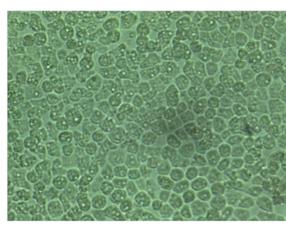


Figura 1. Acima: controle negativo. Abaixo: Após 24h de inoculação

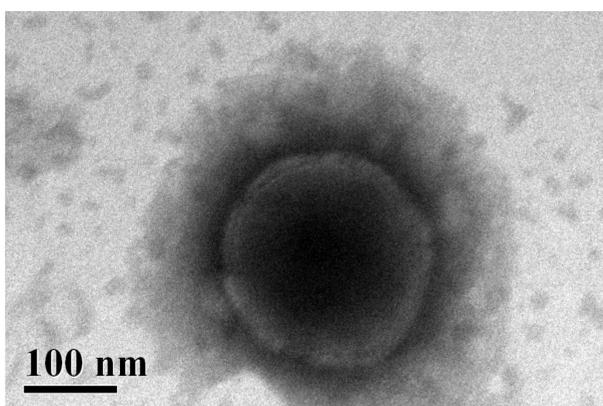
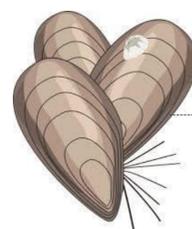


Figura 2. Microscopia eletrônica de transmissão

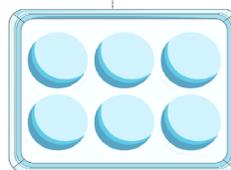
Metodologia



40 mexilhões-dourados
(*Limnoperna fortunei*)

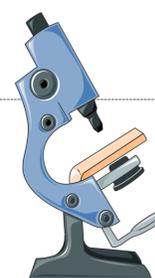
Inoculação de 100µL do filtrado em monocamadas de *Acanthamoeba polyphaga*.

Dissecados em pools, macerados, diluídos em tampão fosfato e filtrados a 0,45µM.



A cada 24h o efeito citopático (EC) foi observado em aumento de 200x e 400x.

Amostras apresentando EC foram preparadas com microscopia eletrônica de transmissão (MET).



PCR (gene DNA polimerase dos marseillevirus, 406 pb)

Sequenciamento de nova geração do DNA total.

Conclusões

O EC observado nos cultivos de amebas foi característico da presença de vírus gigantes, como já foi descrito. O cultivo foi preparado e observado em microscopia eletrônica de transmissão, confirmando se tratar de uma partícula grande de aproximadamente 200 nm, com capsídeo facetado. A PCR positiva indica que um possível membro da família *Marseilleviridae* foi encontrado, pela primeira vez isolado de mexilhões.

Referências:

La Scola B, et al. A giant virus in amoebae. Science. 2003;299:2033; Colson P, et al. Reclassification of giant viruses composing a fourth domain of life in the new order Megavirales. Intervirology. 2012;55:321–332.; Colson P, et al. "Marseilleviridae", a new family of giant viruses infecting amoebae. Arch Virol. 2013;158:915–920

MODALIDADE DE BOLSA: PIBIC-CNPq