

13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

BIOMEDICINA

ANÁLISE ESTRUTURAL DE PARTÍCULAS SEMELHANTES A VÍRUS DO BACTERÍOFAGO MS2 APRESENTANDO PEPTÍDEOS HETERÓLOGOS NA SUPERFÍCIE: POSSÍVEIS PLATAFORMAS VACINAIS

¹Edielly Gomes de Oliveira (IC-Pibic/CNPq); ¹Ana Clara Vicente dos Santos (Doutorado-CNPq); ¹Shana Priscila Coutinho Barroso (Voluntário); ¹Guilherme Augusto Piedade de Oliveira (Voluntário); ²David Peabody (Voluntário); ³Davis Fernandes Ferreira (Voluntário); ⁴Yraima Cordeiro (Voluntário); ⁵Joelma Freire De Mesquita (Voluntário); ¹Jerson Lima da Silva (Voluntário) & ¹Andréa Cheble de Oliveira (Orientador).

1 - Programa de Biologia Estrutural, Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis, Universidade Federal do Rio de Janeiro;

2 - Department of Molecular Genetics and Microbiology, University of New Mexico;

3 - Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes, UFRJ;

4 - Faculdade de Farmácia, UFRJ;

5 - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro;

Apoio Financeiro: CAPES, FAPERJ, CNPq, PRONEX, INBEB

Palavras Chaves: Partículas semelhantes a vírus, nanobiotecnologia, plataforma vacinal.

INTRODUÇÃO

Partículas semelhantes a vírus (VLPs) podem ser consideradas como arranjos densos repetitivos de uma ou mais subunidades de uma proteína e esta característica confere propriedades que são altamente vantajosas para seu uso como plataforma vacinal (Chackerian et al., 2008). A estabilidade de uma VLP é um fator importante para seu uso em Nanobiotecnologia (Luet al., 2014). Nesse projeto, nós descrevemos uma plataforma baseada na VLP do bacteriófago MS2 para o desenvolvimento de vacinas. O MS2 é um vírus icosaédrico, pertencente à família Leviviridae. Seu capsídeo proteico possui, aproximadamente, 27nm de diâmetro e é formado por 180 cópias de uma mesma proteína, a proteína capsídica (Vingé et al., 2004). Peptídeos da alça V3 da glicoproteína gp120 presente no envelope do vírus HIV, da alça ECL2 presente no correceptor CCR5 e o peptídeo Flag foram inseridos na alça AB da proteína capsídica do MS2. Os peptídeos V3 e ECL2 são descritos por induzir a formação de anticorpos com alto potencial antiviral. As novas partículas geradas formam VLPs com grande potencial de plataforma apresentadora de antígenos.

OBJETIVO

Avaliar a estabilidade das diferentes VLPs do bacteriófago MS2, candidatas a plataforma vacinal, na tentativa de elucidar possíveis alterações na estrutura dessas partículas causadas pelas diferentes construções e inserções de peptídeos.

METODOLOGIA

Os efeitos da inserção desses peptídeos na estabilidade estrutural das VLPs foram acompanhados através de espalhamento de luz dinâmico (DLS), espalhamento de luz a baixos ângulos (SAXS) e por microscopia eletrônica de transmissão. Em adição, realizamos a predição de estrutura da proteína capsídica contendo os diferentes insertos. Essas VLPs também foram perturbadas com desnaturantes físicos a fim de avaliar o perfil de estabilidade dessas partículas.

RESULTADOS

As VLPs apresentando o peptídeo Flag, V3 e ECL2 em sua superfície mostraram sutis diferenças estruturais e mostraram uma menor estabilidade comparada a VLP formada pela proteína capsídica nativa. Os dados de DLS mostraram semelhança no diâmetro hidrodinâmico de todas as VLPs com insertos, enquanto a VLP formada pela proteína capsídica nativa possui um diâmetro ligeiramente menor, porém variações observadas no diâmetro hidrodinâmico das partículas pode estar relacionada com a heterogeneidade das amostras (Esfandiary et al., 2010). Os efeitos da pressão hidrostática sobre as VLPs não promoveram a desmontagem das partículas segundo as análises de SAXS. Os efeitos desestabilizadores sobre a montagem das VLPs ao adicionar ou inserir sequências peptídicas têm representado um grande problema no desenvolvimento de plataformas desse tipo: As VLPs formadas pela proteína L1 do HPV, quando acrescidas de sequências de aminoácidos, têm se tornado altamente imprevisíveis na sua auto-montagem, limitando a aplicabilidade geral da técnica (Billaudet et al., 2005), características essas que parecem não ocorrer com a VLP formada pela proteína capsídica do MS2.

CONCLUSÃO

Nossos resultados demonstram que as VLPs formadas pela proteína capsídica contendo peptídeos inseridos apresentaram estruturas ligeiramente diferentes daquelas formadas pela proteína nativa, contudo as VLPs com insertos se comportaram de maneira estável diante de condições desnaturantes como a alta pressão, sugerindo que essas são partículas promissoras para a aplicação como plataforma vacinal.



13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

REFERÊNCIAS

- BILLAUD, J. N., PETERSON, D., BARR, M., CHEN, A., SALLBERG, M., GARDUNO, F. et al. Combinatorial approach to hepadnavirus-like particle vaccine design. *J. Virol.*, v. 79, p. 13656–13666, 2005.
- CHACKERIAN, B., DURFEE, M. R., SCHILLER, J. T. Virus-like display of a neo-self antigen reverses B cell anergy in a B cell receptor transgenic mouse model. *J Immunol.*, v. 180, p. 5816-25, 2008.
- LUA, L. H. L., CONNORS, N. K., SAINSBURY, F., CHUAN, Y. P., WIBOWO, N., MIDDELBERG, A. P. J. Bioengineering Virus-Like Particles as Vaccines. *Biotechnol. Bioeng.*, v. 111, p. 425–440, 2014.
- ESFANDIARY, R.; YEE, L.; OHTAKE, S.; MARTIN, R. A.; TRUONG-Le, V. L.; LECHUGA-BALLESTEROS, D.; MOORE, D. S.; JOSHI, S. B.; MIDDAUGH, C. R. Biophysical characterization of rotavirus serotypes G1, G3 and G4. *Human Vaccines*, v. 6, n. 5, p. 390-398, 2010.
- VINJÉ J., OUDEJANS, S. J., STEWART, J. R., SOBSEY, M. D., LONG, S. C. Molecular detection and genotyping of male-specific coliphages by reverse transcription-PCR and reverse line blot hybridization. *Appl Environ Microbiol.*, v. 70, p. 5996–6004, 2004