

X CAIC - Congresso Anual de Iniciação Científica
XIV ECIF - Encontro Científico da FAMERP
5ª Mostra das Ligas Acadêmicas

ABORDAGEM PROTEÔMICA IDENTIFICA INTERAÇÕES ENTRE A PROTEÍNA NS4b DO VÍRUS DA FEBRE AMARELA COM PROTEÍNAS DO HOSPEDEIRO

Alessandra Vidotto

Ana Thereza Silveira de Moraes¹; Carolina Colombelli Pacca¹; Ronaldo Mohana-Borges²; Laura Helena V. G. Gil³; Maurício Lacerda Nogueira¹

¹Laboratório de Pesquisa em Virologia, Departamento Doenças Dermatológicas, Infeciosas e Parasitárias, FAMERP, SP, Brazil; ²Laboratório de Genômica Estrutural, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ, RJ, Brazil; ³Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães - CpqAM - FIOCRUZ - Recife, Brazil.

Objetivo: Identificar interações entre a proteína NS4b do vírus da Febre Amarela (NS4b-YFV) e proteínas humanas utilizando a abordagem Proteômica. Métodos A proteína NS4b-YFV-GST foi expressa e purificada, realizado um ensaio Pull down e as amostras submetidas à SDS-PAGE para buscar diferenças entre a interação das proteínas humanas, provenientes do extrato celular de HeLa, com a NS4b-YFV-GST e com a GST sozinha. As bandas diferencialmente precipitadas foram submetidas à Espectrometria de massas. **Resultados:** As proteínas identificadas foram classificadas de acordo com suas funções, como: entrada na célula hospedeira, início da infecção viral, via de sinalização do Interferon, regulação da replicação viral, entre outras. Nessa análise, foi possível identificar a CypA interagindo com a NS4b-YFV. O Scaffold confirmou 207 proteínas e 59 estavam aumentadas na interação entre a NS4b-YFV e extrato de HeLa, quando comparadas com a GST sozinha. A CypA apresentou a maior diferença, com um aumento de 22 vezes. O teste de Fisher foi significativo para 58 proteínas e o p-value da CypA foi o mais representativo (0.000000019). Análises utilizando o Ingenuity Systems identificaram 16 vias, entre elas uma de resposta Antimicrobiana. O Ingenuity indicou um inibidor da via do mTOR como um potencial alvo para inibir a CypA. Os resultados de Imunofluorescência e Ensaio de Redução de Placa evidenciaram uma redução significativa na replicação do YFV, quando administrado esse inibidor em culturas celulares, após a infecção viral. Também foi realizada a super expressão da CypA em células BHK LucNeo Replicon YF17D, com e sem tratamento com CsA, e a replicação do YFV foi inibida via CypA. **Conclusão:** Um inibidor da via do mTOR e a CsA foram utilizados com o objetivo de inibir a replicação do YFV e os dados obtidos sugerem que a inibição viral deve ser resultante da interação da NS4b com a CypA. **Descritores:** Proteômica, Vírus da Febre Amarela, NS4b, Interações proteína-proteína, espectrometria de massas, YFV

Fomento: FAPESP, CNPq, PRONEX-Dengue, LNBio/CNPEM.