UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA BIOQUÍMICO – FARMACÊUTICA

Área de Tecnologia de Fermentações

**Desenvolvimento de uma vacina HVT recombinante
expressando a proteína VP2 (IBDV GBV-8) para a prevenção da
doença de Gumboro e Marek**

Richard Saldaña Gonzales

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador:

Prof. Dr. Marco Antônio
Stephano

São Paulo

GONZALES, R. S. **Desenvolvimento de uma vacina HVT recombinante expressando a proteína VP2 (IBDV GBV-8) para a prevenção da doença de Gumboro e Marek.** Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

RESUMO

O vírus da doença infecciosa da bursa, chamado também Doença de Gumboro, causa imunossupressão em aves, em função do vírus infectarem os linfócitos B na Bursa de Fabricius. O vírus da doença de Marek está associado a problemas oncogênicos em aves (linfomas viscerais, lesões em nervos periféricos, lesões na pele e também imunossupressão). O controle das doenças de Gumboro e Marek é de enorme importância econômica, já que ocasiona um grande impacto na indústria avícola e consequentemente na exportação de carne de frango. O uso da tecnologia do DNA recombinante permitiu criar estratégias para produzir novas vacinas usando a manipulação genéticas e a produção de proteínas recombinantes, e também de microrganismos recombinantes com o intuito de elaborar vacinas mais seguras e eficazes. O objetivo do presente trabalho é desenvolver uma vacina vetorial HVT contra as doenças de Gumboro e Marek, de modo que o Herpesvírus de Peru (HVT FC-126) expresse a proteína VP2 madura do Vírus da Doença Bursa Infecciosa (IBDV). Dos resultados apresentados, foi possível elaborar a estratégia da construção do plasmídeo a ser utilizado na transfecção em células FEG. Foi realizado um estudo de sensibilidade ao antibiótico G418. As células FEG foram sensíveis ao antibiótico a concentrações superiores a 1,5mg/mL. Neste trabalho foi desenvolvido um sistema de transfecção de vetores pCMV US2-VP2-GBV8 e pSV40 US2-VP2-GBV8 para inserir a fase de leitura aberta (ORF) da proteína VP2 no genoma do HVT FC-126. Usando este sistema, foi inserido o gene VP2 IBDV GBV-8 por recombinação homóloga na região US2 sob controle de dois promotores (CMV e SV40). Como perspectivas futuras deste trabalho, experimentos complementários para a verificação da expressão serão realizados.

Palavras Chaves: vacina vetorial, VP2, IBDV, HVT.

GONZALES, R. S. Development of recombinant HVT vector vaccine (Marek's disease) inserted with the VP2 protein expression gene of infectious bursal disease virus. Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo

Abstract

Infectious bursal disease virus, also called Gumboro disease, causes immunosuppression in birds due to the destruction of B lymphocytes in the bursa of Fabricius. Marek's disease virus is associated with oncogenic mutations in birds (visceral lymphomas, peripheral nerve damage, skin lesions, and immunosuppression). The control of the diseases of Gumboro and Marek is very important since it causes a great economic impact in the poultry industry. The use of recombinant DNA technology has allowed the creation of strategies to produce new vaccines using genetic manipulation and the production of recombinant proteins aiming for the development of safe and effective vaccines. The aim of the present work is to develop a recombinant vaccine against Gumboro and Marek diseases using Turkey Herpesvirus (HVT FC-126) expressing the VP2 protein of Infectious Bursal Disease Virus (IBDV). From the attained results, was possible to elaborate the strategy for constructing the plasmid to be used in transfection in CEF cells. A study of sensitivity to antibiotic G418 was carried out. FEG cells were sensitive to antibiotics at concentrations above 1.5mg/mL. Furthermore, a transfection system of vectors pCMV US2-VP2-GBV8 and pSV40 US2-VP2-GBV8 was developed to insert the open reading frame (ORF) of the VP2 protein in the genome of HVT FC-126. Using this system, the VP2 IBDV GBV-8 gene was inserted by homologous recombination in the US2 region under the control of two promoters (CMV and SV40). As future perspectives of this work, complementary experiments to verify the expression will be carried out

Keywords: recombinant vaccine, VP2, IBDV, HVT