

Metodologias inovadoras para produção de AGMs - Desenvolvimento de vetores alternativos para a geração de células geneticamente modificados para o fator IX de coagulação humano¹

Gustavo Torres de Souza², Carolina Capobiango Romano Quintão³, Rafaela Chitarra Rodrigues Hell⁴, Luiz Sergio de Almeida Camargo⁵

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil: Parte do plano de ação *Metodologias inovadoras para produção de AGMs* liderado por Luiz Sergio de Almeida Camargo

²Graduando em Farmácia – UFJF/Juiz de Fora-MG. Bolsista PIBIC/CNPQ. e-mail: gustavotsouza@hotmail.com

³Analista, Embrapa Gado de Leite/Juiz de Fora-MG.

⁴Pós-doutoranda, Bolsista PDJ/CNPq

⁵Orientador, Pesquisador, Embrapa Gado de Leite/Juiz de Fora-MG e-mail: luiz.camargo@embrapa.br

Resumo: A produção de animais geneticamente modificados para a expressão heteróloga de proteínas recombinantes humanas (PRHs) tornou-se interessante como possibilidade de aumentar a capacidade de suprir a demanda crescente desses produtos. PRHs produzidas em sistemas de cultivo de células eucarióticas *in vitro* são uma alternativa para a obtenção de proteínas de maior qualidade no que diz respeito a modificações pós-traducionais em relação a sistemas procarióticos, fúngicos ou em plantas. Não obstante, a produção em cultivo de células eucarióticas ainda tem custo operacional alto e relativa baixa produção, tornando atraente a opção de se produzir em animais como biorreatores. Entretanto, a produção de animais geneticamente modificados ainda é obstaculada por diversas etapas no processo. A produção de embriões geneticamente modificados ocorre com baixa eficiência pelos métodos já aplicados rotineiramente, ressaltando que a taxa de nascimentos a partir desses embriões é ainda mais baixa. Frente a esse panorama, melhorias nas técnicas de produção de animais geneticamente modificados para a produção de PRHs são necessárias. Com esse intuito objetivou-se utilizar o semen bovino para carrear vetores lentivirais com um vetor de expressão com o gene do Fator IX de coagulação humano. Foram utilizados vetores de empacotamento e envelopamento de terceira geração e foram desenhados para síntese vetores de expressão com o gene de interesse abaixo dos promotores da beta-caseína bovina e de cabra. foi possível realizar os protocolos iniciais para obtenção dos plasmídeos construídos com qualidade e concentração suficientes para transfecção. Em adição, foi padronizado e testado o protocolo para produção dos vetores lentivirais portando o transgene GFP que tiveram sua capacidade de transdução de genoma confirmado em células HEK GFP-negativas. Ainda será necessária a produção e titulação dos vetores carreando o gene de interesse e ensaios visando a produção de embriões geneticamente modificados.

Palavras-chave: Animais Geneticamente Modificados; Expressão de Proteína recombinante; Fator IX de coagulação; Organismos geneticamente modificados; Transgênicos.