ESTRATÉGIAS DE OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE BACULOVIRUS EM SISTEMAS *IN VITRO*

Souza, M.L.¹, Pedrini, M.R.S.² & Castro, M.E.B.¹

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Núcleo Temático de Controle Biológico, Parque Estação Biológica, Av. W5 Norte Final, CEP 70.770-900, Brasília-DF; ²Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Núcleo Tecnológico, Natal (RN). marlinda@cenargen.embrapa.br

Baculovirus são vírus de invertebrados conhecidos principalmente pelo seu potencial como bioinseticida no controle de pragas agrícolas. Além disso, nas duas últimas décadas tornaram-se importantes ferramentas em biotecnologia como vetores para síntese de proteínas recombinantes. A produção de baculovirus ainda é altamente dependente de sua multiplicação no inseto hospedeiro e a infecção da lagarta se dá após ingestão oral da partícula viral oclusa (poliedro). A produção *in vivo* tem uma série de dificuldades desde a disponibilidade do inseto hospedeiro até possíveis contaminações quando o vírus é multiplicado no campo. O desafio para a produção de baculovirus em cultivos celulares é atraente uma vez que muitos vírus, que são altamente específicos para um determinado inseto alvo, podem ser multiplicados em diferentes linhagens de células de inseto com um alto grau de pureza. Entretanto, esse processo é limitado devido a alterações genéticas espontâneas que ocorrem no vírus durante sua passagem serial em cultura de células. A formação de mutantes com poucos poliedros (*Few Polyhedra* - FP) e de vírus interferentes defectivos (*Defective Interfering* - DIs) são as principais alterações encontradas, resultando na diminuição da produção de poliedros e conseqüente perda da virulência. Os mutantes FP são formados em decorrência de mutações no gene viral *25K FP* e caracterizam-se por terem poucos poliedros no núcleo da célula, poucos virions por poliedro e por possuírem um aumento significativo no número de partículas do tipo BV (*Budded Virus*) em comparação com o vírus selvagem. Os vírus DIs caracterizam-se pela deleção de grande parte de seu genoma e por dependerem, para sua replicação, de um vírus com genoma completo denominado *co-helper*. Estratégias para otimizar a produção *in vitro* dependem principalmente da superação dessas limitações buscando uma maior estabilidade da população viral. Estudos vem sendo desenvolvidos com alguns variantes mais estáveis, denominados *Multiple Polyhedra* (MP), selecionados da população contendo predominantemente FPs e visualizados pela presença de muitos poliedros no núcleo das células. O fato do variante MP ter um alto título de partículas BV, em relação ao vírus selvagem, demonstra uma maior estabilidade em cultura de células e indica que ele pode ser usado em um ciclo maior de passagens. Uma outra metodologia interessante consiste no resgate da patogenicidade do vírus através de ciclos envolvendo a sua passagem em cultura de células e sua ingestão pelo inseto, com conseqüente isolamento do vírus a partir da hemolinfa da larva e de nova multiplicação em sistema *in vitro*. Além disso, uma nova estratégia, em andamento na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, é a construção de células estavelmente transformadas capazes de expressar o gene viral *25 K FP*. A idéia é de que essas células ao sintetizarem a proteína 25K poderiam minimizar o efeito dos mutantes FP levando a recuperação da oclusão dos virions e a formação de poliedros, no entanto essa hipótese está ainda sendo testada.