

Obtenção e caracterização de células de membrana sinovial ovina transformadas pelo antígeno T do vírus símio 40: influência na variabilidade dos genes *gag* e *env* do Ltr dos vírus da Artrite-Encefalite Caprina (CAEV) e Maedi-Visna (MVV) dos ovinos*

UBIRAJARA MACIEL DA COSTA

Ana Paula Ravazzolo (Orientadora - UFRGS)

Banca: Luciane Lovato (UFSM), Juan Arbiza (Universidad de la República, Uruguay), Cláudio Wageck Canal (UFRGS).

Cultivos celulares podem ser utilizados para isolamento viral, caracterização de novas amostras virais e produção de imunobiológicos. Podem ser empregados cultivos celulares primários, secundários ou de linha. Estes últimos podem ser obtidos pela transformação física, química ou biológica de cultivos primários ou secundários. Para verificar a interação entre células transformadas com o Ag T do vírus símio 40 (SV40) e os Lentivírus de Pequenos Ruminantes (SRLV), amostras brasileiras de SRLV foram utilizadas para inoculação em cultivos celulares de membrana sinovial ovina transformados pelo Ag T e comparadas à amostras inoculadas em cultivos não transformados. Inicialmente, as células transformadas pelo Ag T foram caracterizadas e observou-se um aumento na cinética de crescimento e alterações no cariótipo, provavelmente induzidas pela presença do Ag T. Este foi detectado por PCR no núcleo e no citoplasma das células transformadas e sua expressão, confirmada através de RT-PCR. A fim de avaliar a permissividade e a possível seleção de populações virais em células transformadas, dois isolados, um de maedi-visna dos ovinos e um de artrite-encefalite caprina, foram inoculados em células MSO e TMSOpSV1. Através da análise de sequências dos genes *gag* e *env* e LTR obtidos por PCR, procurou-se avaliar a variabilidade viral em função do tipo de célula utilizada. Analisando-se as sequências obtidas pelo método de *Maximum Likelihood*, embora tenha sido observada variabilidade viral, esta não estava associada ao tipo celular utilizado para inoculação viral.

Descritores: CAEV/MVV, cultivo celular, células de linhagem, SV40, transformação celular.

Establishment and characterization of an ovine synovial membrane cell line obtained by transformation with simian virus 40 t antigen: effect in variability of the *gag/env* genes and *Itr* of Caprine Arthritis-Encephalitis Virus (CAEV) and Maedi-Visna virus (MVV) **

UBIRAJARA MACIEL DA COSTA

Ana Paula Ravazzolo (Adviser - UFRGS)

Committee: Luciane Lovato (UFMS), Juan Arbiza (Universidad de la República, Uruguay), Cláudio Wageck Canal (UFRGS).

Transformed cells obtained by the use of tumor genes may induce the selection of virus populations during the isolation and characterization process. In order to evaluate the interaction of small ruminant lentivirus (SRLV) and simian virus 40 (SV40) T Ag transformed cells, two Brazilian isolates were used to inoculate the transformed ovine synovial membrane cell (TOSM) and compared to the non transformed counterpart (OSM). Firstly, the transformed cells were characterized and an increase in growth kinetic and cariotype alterations were observed, probably due to SV40 T Ag. The detection of the T Ag DNA in the nucleus and the cytoplasm of TOSM cells was done by PCR, as well as its expression by RT-PCR. In order to evaluate the permissibility and the hypothesis of virus population selection in the transformed cells, two isolates, one of CAEV and one of MVV, were inoculated in the secondary cultures and in the TOSM cells. Sequence analysis of *gag* and *env* genes and LTR by Maximum Likelihood has demonstrated virus variability, although it was not associated to the cell type used to propagate SRLV.

Key words: CAEV/MVV, cell culture, cell line, SV40, cell transformation.

Presented: 27 February 2004

**Doctoral Dissertation #41 (Field: Virology). 146p. Graduate Program in Veterinary Sciences[www.ufrgs.br/ppgecv], Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre/Brazil. CORRESPONDENCE: U.M. Costa [biravetvirus@yahoo.com.br].