

Universidade de São Paulo
Instituto de Física de São Carlos

XIV Semana Integrada do Instituto de
Física de São Carlos

Livro de Resumos da Pós-Graduação

São Carlos
2024

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Informação do IFSC

Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos
(13: 21-25 ago.: 2023: São Carlos, SP.)

Livro de resumos da XIII Semana Integrada do Instituto de
Física de São Carlos – Universidade de São Paulo / Organizado
por Adonai Hilário da Silva [et al.]. São Carlos: IFSC, 2023.
358p.

Texto em português.

1.Física. I. Silva, Adonai Hilário da, org. II. Título.

ISSN: 2965-7679

120

Novas técnicas biofísicas de biologia estrutural aplicadas em vírus gigantes de *Acanthamoeba castellanii*

DELFINO, Leonardo Martins¹; THIEMANN, Otavio Henrique¹

leonardodelfino@usp.br

¹Instituto de Física de São Carlos IFSC - USP

Os vírus gigantes que infectam amebas, em especial os do gênero Mimivirus, têm atraído atenção mundialmente, devido ao seu tamanho, estruturas complexas, ciclo de reprodução, genomas extensos, elementos transcricionais quase completos em algumas espécies, elementos genéticos móveis dentre outras peculiaridades, quebrando assim, diversos paradigmas da virosfera tradicional (1). Especificamente, os recentemente isolados Niemeyer Vírus (NMV) e Tupanvirus (TPV), que infectam *Acanthamoeba castellanii* e *Acanthamoeba polyphaga*, revelam a formação de uma densa Fábrica Viral (VF) e a desorganização da morfologia intracelular do hospedeiro durante a replicação (2). Técnicas biofísicas e abordagens de biologia estrutural, como Microscopia Eletrônica de Transmissão Criogênica (Cryo-ET), Microscopia Eletrônica de Partículas Únicas Criogênica (Cryo-EM), Tomografia Criogênica de Raios-X Suaves (Cryo-SXT) e Imagem por Difração Coerente (CDI), aliadas a outras técnicas quantitativas como Espectrometria de Massa por Tempo de Voo (TOF-MS), são cruciais para desvendar a arquitetura dessas partículas virais, bem como a formação da fábrica viral e a organização celular do hospedeiro durante o ciclo de infecção (3). Esta pesquisa tem como objetivo fornecer uma análise estrutural abrangente dos componentes do Niemeyer vírus, a formação da fábrica viral de duas espécies de vírus (NMV e TPV), ambos do gênero Mimivirus, durante sua replicação em seu hospedeiro e a caracterização das mudanças na organização celular durante o ciclo viral. Para alcançar esses objetivos, partículas virais são produzidas a partir de culturas de *A. castellanii*, purificadas e, em seguida, utilizadas em grades de Cryo-EM para experimentos de Cryo-ET, Cryo-EM e Cryo-SXT. Fábricas Virais purificadas de NMV e TPV serão analisadas por Espectrometria de Massa por Tempo de Voo (TOF-MS) para determinar as proteínas envolvidas no processo de replicação. Utilizando softwares apropriados como Amira para visualização e análise de tomografias, é possível reconstruir e segmentar estruturas celulares em 3D, fornecendo informações sobre a organização interna das células. CryoSPARK, por sua vez, é especializado no processamento de imagens de microscopia crioelétrica, permitindo a reconstrução em alta resolução de estruturas virais e a análise precisa de complexos vírus-proteína. As condições experimentais foram estabelecidas, e dados preliminares permitiram a reconstrução de tomogramas. Apesar do tamanho dos vírus, é possível visualizar complexos como a VF e a dinâmica de sua biossíntese no citoplasma do hospedeiro. Futuros experimentos de coleta de dados visam aumentar a resolução dos dados para caracterizar melhor as estruturas e complexos-alvo, compreendendo a dinâmica e replicação dos Mimivirus e sua íntima relação com o hospedeiro.

Palavras-chave: Mimivirus; Técnicas estruturais; Fábrica viral.

Agência de fomento: CAPES (88887.901569/2023-00)

Referências:

- 1 COLSON, P.; LA SCOLA, B.; RAOULT, D. Giant viruses of amoebae: a journey through innovative research and paradigm changes. **Annual Review of Virology**, v. 4, p. 61-85, 2017. DOI: 10.1146/annurev-virology-101416-041816.
- 2 ABRAHÃO, J. *et al.* Tailed giant tupanvirus possesses the most complete translational apparatus of the known virosphere. **Nature Communications**, v. 9, p.749, 2018. DOI: 10.1038/s41467-018-03168-1.
- 3 GARRIGA, D. *et al.* Imaging of virus-infected cells with soft X-ray tomography. **Viruses**, v. 13, n. 11, p. 2109, 2021. DOI: 10.3390/v13112109.