



Evento	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2015
Local	Porto Alegre - RS
Título	Expressão heteróloga de uma manoproteína de <i>Cryptococcus gattii</i> com potencial imunoterapêutico para o tratamento da criptococose.
Autor	CAROLINA BETTKER VASCONCELOS
Orientador	LIVIA KMETZSCH ROSA E SILVA

Expressão heteróloga de uma manoproteína de *Cryptococcus gattii* com potencial imunoterapêutico para o tratamento da criptococose.

Carolina Bettker Vasconcelos¹, Livia Kmetzsch Rosa e Silva¹.

¹ Centro de Biotecnologia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

As leveduras encapsuladas *Cryptococcus gattii* e *Cryptococcus neoformans* são os principais agentes etiológicos da criptococose. Essa infecção é caracterizada por atingir os pulmões e se disseminar para o sistema nervoso central, causando meningite. Enquanto *C. neoformans* infecta normalmente pacientes imunocomprometidos, *C. gattii* possui a capacidade de infectar pacientes imunocompetentes. As manoproteínas, que correspondem a aproximadamente 1% da composição da cápsula de *Cryptococcus*, são altamente imunogênicas e induzem resposta imune mediada por células T durante a infecção em modelo murino. Devido à toxicidade dos atuais antifúngicos no tratamento da infecção causada por *C. gattii* e *C. neoformans*, estudos que visam gerar inovações na área de estratégias imunoterapêuticas para o tratamento da criptococose são de grande relevância. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho é avaliar o potencial imunoterapêutico de uma manoproteína de *C. gattii* recombinante em ensaios de infecção experimental. Análises *in silico* do genoma de *C. gattii* evidenciaram a presença de vários genes codificadores de manoproteínas. Um deles codifica um produto com massa predita de 43kDa. Análises de bioinformática sugerem que o mesmo possui todas as características essenciais de uma manoproteína: (i) uma região rica nos aminoácidos serina e treonina, em que as manoses são adicionadas; (ii) um domínio C terminal de ancoramento à GPI e (iii) uma região na porção N terminal onde se localiza um peptídeo sinal para secreção. Com a finalidade de expressar esse produto gênico em *Pichia pastoris* para posterior purificação e utilização em ensaios de avaliação do potencial imunoterapêutico no tratamento da criptococose, *primers* foram projetados a fim de eliminar as regiões do peptídeo sinal e da âncora de GPI, para maior eficiência durante a purificação. O fragmento foi amplificado e clonado no vetor pPICZαC, amplamente utilizado em sistemas de expressão em *P. pastoris*. Esse vetor possui uma sequência que codifica um peptídeo sinal, um promotor induzido por metanol, uma cauda de histidinas e um gene de resistência à zeocina, que permite a seleção de transformantes tanto em bactéria quanto em *P. pastoris*. A confirmação da construção foi realizada por clivagem com as enzimas BglII, NcoI e KpnI e posterior sequenciamento. Para a eletroporação do vetor em células competentes de *P. pastoris* X-33, o mesmo foi linearizado com a enzima PmeI. Foram obtidos 57 transformantes que estão sendo avaliados para expressão da manoproteína recombinante primeiramente por PCR de colônia seguido de testes de indução da expressão com metanol. Após a expressão e purificação da manoproteína recombinante de *C. gattii*, serão realizados testes para avaliar o potencial imunoterapêutico da mesma em modelo murino de criptococose.