

SALÃO DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA
XXIX SIC
**UFRGS**
PROPESQ



múltipla 
UNIVERSIDADE
inovadora  inspiradora

Evento	Salão UFRGS 2017: SIC - XXIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2017
Local	Campus do Vale
Título	Identificação e caracterização funcional de genes envolvidos na virulência de <i>Cryptococcus gattii</i>
Autor	HERYK MOTTA DE SOUZA
Orientador	LIVIA KMETZSCH ROSA E SILVA

Identificação e caracterização funcional de genes envolvidos na virulência de *Cryptococcus gattii*.

Heryk Motta de Souza*, Lívia Kmetzsch. Centro de Biotecnologia – UFRGS

Criptococose é uma infecção fúngica de alta importância clínica frequentemente manifestada como pneumonia, podendo estar associada à meningoencefalite e levar o paciente ao óbito. Dentre os agentes etiológicos causadores desta doença, a levedura *Cryptococcus gattii* possui maior incidência de infecção em pacientes imunocompetentes, quando comparada à *Cryptococcus neoformans*. Acreditava-se que a distribuição geográfica de *C. gattii* era limitada às regiões tropicais e subtropicais, porém, na última década, diferentes linhagens de *C. gattii* foram isoladas em regiões de clima temperado, incluindo países da Europa e América. O sucesso da infecção por essa levedura é devido à produção de inúmeros fatores de virulência como, por exemplo, a síntese de uma cápsula polissacarídica, capacidade de formar biofilme, síntese de melanina e crescimento a 37 °C. *Heat Shock Proteins* (Hsp) já foram descritas por atuarem de forma a influenciar esses fatores de virulência. Em *Candida albicans*, constatou-se a influência das Hsps na formação de biofilme e resistência à drogas antifúngicas. Em *C. neoformans*, Hsps atuam diretamente na virulência devido o aumento de expressão de diferentes proteínas dessa classe (Hsp12, Hsp60, Hsp70 e Hsp90) em modelo murino de criptococose e também na sinalização celular em resposta a diferentes estresses. Considerando o exposto, este trabalho tem por objetivo selecionar e caracterizar funcionalmente um gene potencialmente importante para a fisiologia celular e virulência de *C. gattii*. Para tal, foram analisados dados prévios de RNAseq obtido de lavado broncoalveolar de camundongos da linhagem BALB/c infectados por *C. gattii* linhagem R265. Os genes mais expressos foram analisados a partir do cálculo de FPKM e dois candidatos foram selecionados, sendo estes os genes *CNBG_2441* e *CNBG_5006*. O gene *CNBG_2441* codifica putativamente uma pequena Hsp (*small Hsp*), enquanto *CNBG_5006* uma proteína de sinalização relacionada a situações de estresse. Com a finalidade de selecionar o gene alvo deste estudo, foi feita a avaliação da expressão relativa dos mesmos nas condições de choque térmico, interação com macrófagos J774A.1 e exposição à concentração sub-inibitória de fluconazol. *CNBG_2441* apresentou aumento de expressão em condição de interação com macrófagos, redução em concentração sub-inibitória de fluconazol e aumento significativo em condição de choque térmico. *CNBG_5006* apresentou resultados semelhantes, porém com diminuição de expressão em condição de interação com macrófagos. Considerando a divergência nos resultados de expressão dos genes avaliados em interação com macrófagos, o gene *CNBG_2441* foi selecionado para análise funcional a partir da construção de um mutante nulo para o mesmo. Para construção do vetor de deleção, as regiões 5' e 3' do gene alvo foram amplificadas por PCR e clonadas no vetor pDONR_NAT com marca de resistência a nourseotricina. A construção do vetor foi confirmada por padrão de clivagem com enzimas de restrição. Como perspectivas deste trabalho, tem-se a construção do mutante nulo seguida da construção de uma linhagem complementada para caracterização funcional do gene *CNBG_2441* na virulência de *C. gattii* R265.