



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Expressão heteróloga de manoproteína recombinante de <i>Cryptococcus gattii</i> em <i>Escherichia coli</i>
Autor	HERYK MOTTA DE SOUZA
Orientador	CHARLEY CHRISTIAN STAATS

Expressão heteróloga de manoproteína recombinante de *Cryptococcus gattii* em *Escherichia coli*.

Heryk Motta de Souza*, Charley Christian Staats; Centro de Biotecnologia – UFRGS

Criptococose é uma infecção fúngica de alta importância clínica frequentemente manifestada como pneumonia, podendo ou não ser 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 sua distribuição geográfica era limitada às regiões tropicais e subtropicais, porém, na última década, *C. gattii* foi isolado em diversas regiões de clima temperado, incluindo países da Europa, além de ter sido responsável por um surto de infecção na ilha de Vancouver, Canadá. O sucesso da infecção por *C. gattii* é devido a produção de inúmeros fatores de virulência, dentre eles a expressão de uma cápsula polissacarídica capaz de modular a resposta imune do hospedeiro. Cerca de 1% da composição desta cápsula é constituída por manoproteínas, as quais possuem a capacidade de induzir resposta imune mediada por células T durante infecção em modelo murino. Considerando o exposto, este trabalho tem por objetivo avaliar o potencial imunoterapêutico de uma manoproteína de *C. gattii* através da expressão heteróloga da mesma em *Escherichia coli*. A análise *in silico* do genoma de *C. gattii* evidenciou a presença de uma manoproteína, anotada como proteína hipotética, com massa predita de 43 kDa a qual é codificada pelo gene CNBG4278. Ela possui todas as características essenciais de uma manoproteína: uma região rica nos aminoácidos serina e treonina, em que as manoses são adicionadas; um domínio C terminal de ancoramento à GPI e uma região na porção N terminal onde se localiza um peptídeo sinal para secreção. Com o intuito de expressar CNBG4278 em *E. coli*, foi realizada a amplificação da região codificadora do gene a partir do cDNA de *C. gattii* e a clonagem no vetor pET23D, cuja expressão é induzida por IPTG ou lactose. A expressão da manoproteína CNBG4278 foi realizada em *E. coli* linhagem BL21(DE3)pLysS. A manoproteína recombinante foi purificada utilizando coluna de afinidade a cobalto, utilizando tampões de eluição com diferentes concentrações de imidazol. As frações parcialmente purificadas foram analisadas através de eletroforese em gel de poliacrilamida SDS-PAGE. Realizou-se, também, análise por espectrometria de massas da banda obtida em SDS-PAGE para confirmação da expressão da proteína recombinante. Além disto, foi realizado ensaio de Western blot utilizando soro de pacientes diagnosticados com criptococose, o qual confirmou a imunogenicidade de CNBG4278. Após produção e purificação em maior quantidade da manoproteína recombinante, serão realizados testes para avaliar o potencial imunoterapêutico da mesma em modelo murino de criptococose.