



## SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2016
<b>Local</b>	Campus do Vale - UFRGS
<b>Título</b>	Construc a o de mutante de superexpressa o para avaliac

a

o funcional do gene CNBG4278 de *Cryptococcus gattii*

**Autor**

CAROLINA BETTKER VASCONCELOS

**Orientador**

CHARLEY CHRISTIAN STAATS

## Construção de mutante de superexpressão para avaliação funcional do gene CNBG4278 de *Cryptococcus gattii*

Carolina Bettker Vasconcelos<sup>1</sup>, Charley Christian Staats<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> 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. Estimativas apontam um milhão de casos anuais de infecção por *Cryptococcus* no mundo, gerando 620 mil mortes anualmente. A infecção é causada principalmente por *C. neoformans*, atingindo preferencialmente pacientes imunocomprometidos. No entanto, também há incidência marcante em pacientes imunocompetentes, principalmente pela ação de *C. gattii*. Devido à alta toxicidade dos atuais tratamentos antifúngicos e ao aumento do número de cepas resistentes, estudos que visam gerar inovações na área de estratégias imunoterapêuticas para o tratamento da criptococose são de grande relevância. As manoproteínas correspondem a aproximadamente 1% da composição da cápsula de *Cryptococcus* e são extremamente imunogênicas. Considerando que estas proteínas são capazes de induzir resposta imune mediada por células T, sua utilização no desenvolvimento de novas terapias contra a criptococose é promissora. No entanto, atualmente não existem relatos na literatura sobre manoproteínas de *C. gattii*. Este fato, aliado ao aumento da expressão do gene CNBG4278, o qual codifica uma manoproteína, em situações de interação com o hospedeiro, sugere que este gene pode ser um interessante alvo de estudo. Sendo assim, este trabalho objetivou construir linhagens de superexpressão deste gene para sua caracterização funcional. Para tanto, foi realizada a construção de mutantes de superexpressão de CNBG4278 em um mutante nulo para este gene. Três linhagens foram selecionadas (*cnbg4278Δ-P<sub>H3</sub>CNMG4278* 19, 39 e 62) e submetidas a testes fenotípicos, juntamente com as linhagens mutante *cnbg4278Δ* e complementada *cnbg4278Δ::CNMG4278*. Os resultados demonstraram que CNMG4278 não interfere nos mecanismos de termotolerância ou tolerância a estresse osmótico. No entanto, sua deleção causou danos que levaram à manifestação de um fenótipo mucoide da colônia, o qual não foi revertido em duas linhagens de superexpressão *cnbg4278Δ-P<sub>H3</sub>CNMG4278* 19 e 62. Os danos causados podem estar relacionados a estabilidade da parede celular, já que estas linhagens são hipersensíveis a *Congo Red* (400 mg/mL). Os resultados também demonstraram que as linhagens estudadas apresentam um padrão diferenciado de produção de melanina. A síntese de cápsula polissacarídica e atividade de fosfolipase não foram alteradas. A atividade de urease de todas as linhagens foi negativa. No ensaio de sobrevivência em macrófagos, leveduras *cnbg4278Δ* foram menos fagocitadas em um tempo curto de interação, mas o nível de fagocitose foi igualado ao da linhagem selvagem R265 após 24 horas. Desta forma, conclui-se que a proteína codificada pelo gene CNMG4278 pode estar envolvida na estrutura da parede celular, podendo influenciar a expressão de fatores de virulência em *C. gattii*.