

269

RETENÇÃO DE ÍNTRON NO PROCESSAMENTO DO GENE CHI2 DE METARHIZIUM ANISOPLIAE. Karina Bohrer do Amaral, Juliano Tomazzoni Boldo, Augusto Schrank (orient.) (UFRGS).

Metarhizium anisopliae é um fungo entomopatígeno que se utiliza de hidrolases, como quitinases, e pressão mecânica produzida por apressório para transpor a cutícula e causar infecção em artrópodes. Sete atividades de quitinases foram propostas em *M. anisopliae*, podendo estar relacionadas com a morfogênese do próprio fungo e/ou com a infecção de hospedeiros. Até o presente foram caracterizados três genes de quitinases em *M. anisopliae*. O gene *chi2* foi previamente clonado e caracterizado, contendo regiões consenso conservadas em ortólogos de fungos filamentosos e dois íntrons, de 211 e 72 pares de base. Por análises de RT-PCR, observou-se a presença de dois transcritos: um de 1.260 pb, completamente processado, e outro de 1.332 pb que retém o segundo íntron, sugerindo “*splicing* alterado” ou retenção de íntron. A fim de confirmar a hipótese de *splicing* sugerida pelos resultados de RT-PCR, já demonstrada em outros fungos, foram procedidas análises dos transcritos e das possíveis proteínas por eles sintetizadas. A linhagem E6 de *M. anisopliae* foi cultivada em meio mínimo contendo como fontes de carbono glicose 1% ou quitina cristalina 1%. Após 24, 48, 72, 96 e 120 horas de crescimento, RNA total e proteínas de sobrenadante de cultura foram extraídos. Os resultados dos experimentos de *Northern blot* reforçam a hipótese de processamento diferencial por confirmarem a presença dos dois transcritos. A análise de *Western blot* 2D demonstrou a presença de duas proteínas que, de acordo com análises prévias *in silico*, indica a provável presença de CHI2 nas duas formas de processamento. Nosso grupo de pesquisa tem como perspectiva identificar os *spots* por espectrometria de massas (Q-TOF) a fim de confirmar o evento de “*splicing* alterado” sugerido para o gene *chi2*.