

Sessão 37

Genética Molecular II

400

ESTUDO DO SISTEMA DE PROTEÇÃO A RADICAIS LIVRES DE OXIGÊNIO DO FUNGO *Metarhizium anisopliae*. Ana C. O. da Costa; Paulo M. Pinto; Irene S. Schrank₁; Augusto Schrank₁; Marilene H. Vainstein₂ (Laboratório de Biologia Celular e Molecular de Fungos Filamentosos – CBIOT – PPGBCM - UFRGS).

Espécies reativas de oxigênio (ROS), tais como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e os radicais hidroxila ($\cdot OH$) e superóxido ($\cdot O_2^-$), são gerados durante o metabolismo oxidativo, são conhecidos por causar uma variedade de lesões celulares, incluindo danos ao DNA, à proteínas, à lipídeos e a outras biomoléculas. Além desta produção no metabolismo normal, durante os processos de infecção o sistema imune do hospedeiro gera ROS para neutralizar o patógeno. Por sua vez, os patógenos desenvolveram mecanismos de defesa para minimizar os efeitos nocivos das ROS, utilizando sistemas antioxidantes não-enzimáticos e enzimáticos. Estima-se que *M. anisopliae* tenha a capacidade de infectar e matar mais de 300 espécies de artrópodes, em especial insetos, incluindo pragas da Agricultura e da Pecuária. Estudando a relação existente entre a patogenicidade de *M. anisopliae* ao carrapato *Boophilus microplus* e o estresse oxidativo, nosso grupo isolou, uma ORF que foi denominada *srg* (*superoxide related gene*). O objetivo deste trabalho é analisar a possível relação entre o gene *srg* e o sistema de proteção a ROS do fungo *M. anisopliae*, bem como, com a patogenicidade do fungo ao carrapato. A análise de dez linhagens de *M. anisopliae* mostrou a presença do gene *srg* em todas, evidenciando a sua provável importância para o fungo. Para verificar a relação entre o gene *srg* e o estresse oxidativo em *M. anisopliae*, o fungo foi cultivado em MCc (Meio Cove completo) acrescido de 25mM de Paraquat (um indutor de radicais superóxido) e extraiu-se RNA total para verificação da presença de transcritos do gene *srg* utilizando como sonda um fragmento de DNA do gene *srg*. Esta análise mostrou que a presença de Paraquat induz a transcrição do gene. Visando obter mais informações sobre a proteína SRG, a ORF do gene *srg* foi clonada e expressada no vetor pET 23d. A proteína recombinante apresentou-se predominantemente em corpos de inclusão solubilizada com 0,5% de SDS. Em continuidade, a proteína recombinante será purificada e utilizada para produzir anticorpos com o objetivo de estudar a sua expressão em condições de infecção e de imunolocalizar nas células de *M. anisopliae*. (PIBIC-CNPq, 1-Depto de Biologia Molecular e Biotecnologia. 2-Depto de Microbiologia).