

MIRELLE GARCIA SILVA

“MINI-TRANSCRIPTOMA DE *Paracoccidioides brasiliensis* DURANTE A TRANSIÇÃO DIMÓRFICA DE MICÉLIO PARA LEVEDURA”

RESUMO

Paracoccidioides brasiliensis é um fungo patogênico dimórfico, causador da paracoccidioidomicose (PCM), que cresce como micélio à 25-26 °C no meio ambiente e como levedura à 36-37 °C nos tecidos do hospedeiro. A PCM é uma micose humana sistêmica, que apresenta distribuição geográfica restrita a países da América Latina, com maior incidência no Brasil, onde é considerada a oitava causa mais comum de morte entre infecções crônicas e doenças parasitárias como um todo. A doença apresenta-se sob duas formas clínicas: aguda, a mais severa, e crônica. Admite-se que os propágulos produzidos pela forma miceliana são os responsáveis pela infecção. Uma vez inalados, esses propágulos atingem o epitélio pulmonar onde se transformam em levedura, a forma patogênica. A habilidade de *P. brasiliensis* de transitar para a forma de levedura nos tecidos do hospedeiro é essencial para sobrevivência e proliferação do fungo. Esse processo é regulado predominantemente pela temperatura e precedido por várias mudanças moleculares. A identificação de genes envolvidos na transição micélio-levedura em *P. brasiliensis* tem despertado interesse, desde que a patogenicidade está intimamente ligada à transição dimórfica em alguns fungos. A análise de genes transcritos durante a transição micélio-levedura (transcriptoma) permite a identificação de genes associados ao dimorfismo, auxiliando nos estudos sobre a biologia de *P. brasiliensis*. Com o objetivo de ampliar a base de dados de seqüências de *P. brasiliensis* provavelmente importantes durante a transição dimórfica, foi realizado o seqüenciamento de cDNAs provenientes de RNA do fungo nesta condição. Utilizou-se uma biblioteca de cDNA, construída com RNA isolado de *P. brasiliensis* em transição para levedura. O DNA plasmidial extraído dos clones selecionados aleatoriamente foi utilizado para as reações de seqüenciamento. As seqüências obtidas foram processadas utilizando-se ferramentas de bioinformática (nomeação das bases, verificação da qualidade, mascaramento de contaminantes das seqüências expressas e agrupamento das seqüências de ESTs com a ferramenta CAP3). O seqüenciamento dos insertos de *P. brasiliensis* resultou em 979 seqüências de cDNAs. Após análises, foram obtidas 420 seqüências de boa qualidade (84 contigs e 161 singlets). As seqüências consenso dos contigs e singlets foram automaticamente comparadas contra as seqüências depositadas no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) utilizando-se a ferramenta BLAST. Foram identificados genes induzidos durante a transição dimórfica. Posteriormente, os 245 agrupamentos foram comparados com as seqüências anotadas no projeto Genoma Funcional e Diferencial de *P. brasiliensis* (<https://dna.biomol.unb.br/Pb/>), possibilitando a identificação de ESTs possivelmente específicas da transição dimórfica. Desta análise, resultaram 16 novos genes. Genes do metabolismo primário, relacionados à síntese e destino de proteínas e transporte celular foram altamente representados na biblioteca. Genes potencialmente relacionados com a síntese de membrana e parede celular aumentaram sua expressão durante a diferenciação celular de micélio para levedura, sugerindo que *P. brasiliensis* favorece o remodelamento da membrana e parede celular durante a fase inicial da morfogênese.