



Evento	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2014
Local	Porto Alegre
Título	Análise da expressão de genes envolvidos na homeostase de metais em <i>Cryptococcus gattii</i>
Autor	CAMILA DIEHL DA ROSA
Orientador	CHARLEY CHRISTIAN STAATS

Uma importante patologia que acomete pacientes imunocomprometidos é a criptococose, que tem como principais agentes etiológicos as leveduras *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*. Ao passo que *C. neoformans* é considerado um patógeno oportunista, *C. gattii* é um patógeno primário capaz de causar doença em hospedeiros imunocompetentes. Para conter um processo infeccioso, o hospedeiro pode diminuir a biodisponibilidade de alguns nutrientes, como glicose, ferro e zinco, para dificultar o desenvolvimento de microorganismos, sendo essa limitação imposta pelo hospedeiro conhecida como imunidade nutricional. Recentemente, foi mostrado por nosso grupo que o adequado metabolismo de zinco em *C. gattii* é fundamental para o seu potencial infectivo. Dados não publicados ainda revelaram que as proteínas codificadas pelos genes *ZIP1* e *ZIP2*, possíveis transportadoras de metais, participam ativamente no desenvolvimento de *C. gattii* em condições de privação de zinco. Neste contexto, a expressão destes transportadores pode ser regulada quando células de *C. gattii* são submetidas ao cultivo de privação de metais. Frente ao papel essencial do zinco, torna-se necessário o maior conhecimento do metabolismo desse metal, como promissor alvo para novas estratégias de tratamentos a infecções causadas por *C. gattii*. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a modulação da homeostase do metal zinco em *C. gattii* e a sua influência na atividade antifúngica de macrófagos. Bem como a caracterização de alguns genes envolvidos no metabolismo desse metal. Para analisar se a expressão dos genes *ZIP1*, *ZIP2* e *ZIP3* são influenciadas pela disponibilidade ou privação de zinco e se a expressão de algum desses genes responde de maneira mais específica este metal, foi realizado o cultivo da linhagem R265 nas condições controle (meio YNB), privação de zinco (adição de 100 μ M de quelante DTPA) e condições com 100 μ M de quelante DTPA, suplementado ou não com 400 μ M de $ZnCl_2$ ou 400 μ M de $FeCl_2$ no meio de cultivo. Para analisar se há um efeito compensatório na ausência do gene *ZIP2* pelo aumento da expressão do gene *ZIP1*, foi realizado o cultivo da linhagem R265 na condição controle e privação de zinco, utilizando o quelante DTPA. Além do cultivo da linhagem selvagem, foi realizado o cultivo da linhagem mutante para o gene *ZIP2* (*zip2* Δ) nas mesmas condições, por um período de duas horas. Todas as células foram congeladas e liofilizadas para posterior extração de RNA total, utilizando o reagente Trizol. Para análises de Real Time PCR, foi realizada a síntese de cDNA através do método de RT-PCR. A quantidade relativa de cada transcrito foi normalizada de acordo com os valores de Ct obtidos para os transcritos referentes ao gene normalizador Actina. Análise estatística realizada por Student t test. Foi observado um aumento dos níveis relativos de transcritos quando as células de R265 selvagem são cultivadas na condição de privação de zinco para os genes *ZIP1* ($p < 0,05$), *ZIP2* ($p < 0,01$) e *ZIP3* ($p \leq 0,001$) em relação à condição controle. Os níveis de expressão de *ZIP1* mostraram redução significativa quando foi adicionado $ZnCl_2$ ao meio contendo quelante DTPA ($p < 0,05$), mas não houve redução significativa nos níveis de expressão quando adicionamos $FeCl_2$ ao meio de cultivo nas mesmas condições, sugerindo que a proteína codificada pelo gene *ZIP1* seja um transportador de alta afinidade. Além disso, observamos um aumento significativo na expressão do gene *ZIP1* ($p < 0,0001$) na linhagem *zip2* Δ demonstrando que ocorre uma provável compensação da deleção do gene *ZIP2*. Assim, podemos concluir que células de *C. gattii* respondem à privação de zinco elevando a expressão de transportadores deste metal, sendo o principal envolvido o produto do gene *ZIP1*.