



Evento	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2014
Local	Porto Alegre
Título	Identificação de vesículas extracelulares secretadas pelo fungo filamentoso <i>Metarhizium anisopliae</i>
Autor	ELIARA ASSIS MAUZOLF
Orientador	AUGUSTO SCHRANK

O fungo filamentosso *Metarhizium anisopliae* é um entomopatógono de grande importância devido ao seu amplo potencial como agente biocontrolador de pragas na agricultura, pecuária e de insetos vetores de doenças humanas. Diversos fatores de virulência de *M. anisopliae* são enzimas hidrolíticas secretadas. Enzimas como lipases, proteases e quitinases são secretadas durante os estágios iniciais da infecção que degradam o tegumento do artrópode hospedeiro permitindo o estabelecimento da infecção. Muitas destas enzimas não apresentam sequências que identifiquem sua secreção pelas rotas clássicas. Em fungos filamentosos uma rota não clássica de secreção denominada secreção por vesículas foi descrita como sendo muito importante em processos de patogenicidade.

Esta descoberta possibilita uma nova abordagem no estudo da patogenicidade de fungos. É possível que em *M. anisopliae*, macromoléculas responsáveis pela sua patogenicidade sejam transportadas por esta via para o sítio de infecção e, portanto, nosso objetivo é identificar e caracterizar vesículas extracelulares secretadas pelo fungo entomopatogênico *M. anisopliae*. Para o isolamento das vesículas extracelulares, *M. anisopliae* foi cultivado em 100mL de meio de cultura MCc mantido a 28°C com agitação. A cada 3 dias foi adicionado meio MCc recém preparado, totalizando um volume de 1000mL ao final de 15 dias. As células foram coletadas por filtração e armazenadas a 4 °C. O sobrenadante foi concentrado aproximadamente 20 vezes por ultrafiltração. Restos celulares do sobrenadante foram removidos por centrifugação. O *pellet* foi descartado e o sobrenadante resultante foi em seguida centrifugado a 100.000 x g durante 1h a 4 °C. O *pellet* contendo as vesículas extracelulares foi lavado por cinco sequências de ressuspensão e centrifugação. As vesículas isoladas foram ressuspensas em solução de fixação para posterior visualização por microscopia eletrônica de transmissão (em andamento). Alternativamente, as vesículas isoladas serão analisadas quanto a sua composição lipídica por cromatografia de camada delgada. As possíveis vesículas serão caracterizadas em relação ao seu conteúdo vesicular por análise proteômica e ensaios enzimáticos.

Apoio financeiro: CNPq, CAPES e Pibic (FAPERGS)