

Búsqueda de factores de virulencia en el hongo patógeno *Sporothrix globosa*

Descripción general

Los miembros del clado patogénico del género *Sporothrix* son un grupo de hongos patógenos que afectan a humanos y otros mamíferos, y son los agentes causales de la esporotricosis, una micosis subcutánea endémica de Latinoamérica y regiones tropicales. A la fecha, *Sporothrix schenckii*, *Sporothrix globosa* y *Sporothrix brasiliensis* son las especies asociadas a la mayoría de las infecciones humanas y veterinarias. Mientras que *S. brasiliensis* se encuentra restringido a Brasil y Argentina, y *S. schenckii* está distribuido a nivel mundial, *S. globosa* se reporta principalmente en Asia y algunas regiones del continente americano. La caracterización de sus atributos de virulencia se ha realizado utilizando modelos de infección sistémica o subcutánea en ratones, y se ha demostrado que hay una jerarquización en el grado de virulencia de las diferentes especies, siendo en términos generales *S. brasiliensis* la especie mucho más virulenta y agresiva de las tres, seguida de *S. schenckii* y *S. globosa*.

A la fecha, el conocimiento sobre los factores de virulencia que le permiten a estos organismos colonizar y dañar tejidos en el hospedador es extremadamente limitado, reportándose solo la presencia de adhesinas en *S. schenckii*. Una alternativa para la generación rápida de conocimiento sobre los factores de virulencia en organismos patógenos es la secuenciación de su genoma, la predicción de genes y, mediante estudios bioinformáticos comparativos, la predicción de probables genes que codifiquen para ortólogos de factores de virulencia ya descritos en otros sistemas. Posteriormente, mediante estrategias de manipulación genética dirigida, es posible generar mutantes a las que se les cuestione sobre la relevancia biológica del gen en estudio. Esta estrategia ha generado un conocimiento abundante sobre factores de virulencia en otros hongos patógenos, como *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* y *Cryptococcus neoformans*. Dado que el genoma de los miembros del clado patogénico de *Sporothrix* ya ha sido secuenciado y la información liberada, nuestro grupo de trabajo ya ha realizado y publicado este tipo de ejercicios usando el genoma de *S. schenckii* y *S. brasiliensis*; quedando pendiente, a la fecha, el análisis del genoma de *S. globosa*.

Por todo lo anterior, en este proyecto se propone realizar un análisis bioinformático para la predicción de genes que codifiquen para ortólogos de factores de virulencia descritos en otros sistemas fúngicos. En particular, se dará énfasis a los genes que codifican para adhesinas, proteasas y lipasas secretadas, componentes de las maquinarias de termotolerancia, dimorfismo, generación de toxinas, síntesis de pared celular y asimilación de nutrientes. Esta estrategia generará una lista de posibles genes codificantes para factores de virulencia, de la cual se seleccionará por lo menos uno de ellos para realizar el ejercicio de síntesis *in silico* de DNA recombinante que contenga construcciones para el silenciamiento de gen blanco en *S. globosa*.

De esta manera, el participante obtendrá conocimientos básicos de bioinformática y de técnicas de manipulación genética en hongos filamentosos.

Objetivo general

Analizar los genes que codifiquen factores de virulencia dentro del genoma de *S. globosa*.

Objetivos particulares

1. Identificar posibles genes que codifiquen para ortólogos de factores de virulencia dentro del genoma de *S. globosa*.

2. Generar *in silico* las construcciones para el silenciamiento de por lo menos un gen identificado en el objetivo 1.

Metas del proyecto

Realizar un ejercicio bioinformático de predicción de posibles ortólogos de factores de virulencia dentro del genoma de *S. globosa* y la generación *in silico* de construcciones binarias para el silenciamiento de genes. Esto dará la oportunidad al participante de aprender o reforzar aspectos básicos en bioinformática y diseño experimental en biología molecular. Al mismo tiempo, se generará información nueva y original, la cual podría servir de materia prima para el desarrollo de proyectos de investigación encaminados al estudio de los factores de virulencia predichos en *S. globosa*.

Resultados esperados

Una base de datos que enliste los posibles factores de virulencia identificados dentro del genoma de *S. globosa*, con sus correspondientes valores bioinformáticos que validen las propuestas. Diseño *in silico* de una estrategia para el silenciamiento de por lo menos uno de los genes identificados. Predicción de los resultados moleculares esperados, después de aplicarse esta metodología en un laboratorio húmedo de experimentación.

Cronograma de actividades

Actividad	Semana 1 22/06-26/06	Semana 2 29/06-03/07	Semana 3 06/07-10/07	Semana 4 13/07-17/07	Semana 5 20/07-24/07	Semana 6 27/07-31/07
Lectura y análisis de literatura especializada.	✓	✓	✓	✓		
Familiarización con la base de datos del genoma de <i>S. globosa</i> .	✓					
Familiarización con las bases de datos de otros hongos de interés para el proyecto.	✓	✓				
Aprendizaje a distancia de las técnicas de búsqueda de posibles ortólogos funcionales de factores de virulencia.		✓				
Predicción de los posibles ortólogos funcionales de factores de virulencia dentro del genoma de <i>S. globosa</i> .		✓	✓	✓	✓	
Familiarización con la técnica de silenciamiento génico en <i>Sporothrix</i> .	✓					
Diseño de oligonucleótido iniciadores y generación <i>in silico</i> del DNA recombinante.				✓		
Predicción de resultados moleculares esperados de la manipulación genética de <i>S. globosa</i> .				✓	✓	
Escritura del reporte final de la investigación				✓	✓	✓



Héctor Manuel Mora Montes
Responsables del proyecto