

Búsqueda de factores de virulencia en el hongo patógeno *Candida krusei*

Descripción general

La candidiasis es una infección causada por especies del género *Candida* y puede ser superficial o sistémica. Ésta última está asociada a tasas de morbilidad y mortalidad altas, sobre todo en individuos inmunosuprimidos o cuando se trata de una infección nosocomial (entre 63 y 75% de mortalidad, dependiendo del hospital y área de hospitalización).

Candida albicans es el organismo que más frecuentemente se asocia con la candidiasis, aunque otras especies también destacan por su alta incidencia, causando colectivamente entre el 35 al 65% de las infecciones asociadas al género *Candida*. *Candida krusei* es una de las especies emergentes del género que comúnmente se aíslan de individuos con candidiasis sistémica, y sus infecciones se caracterizan por una alta mortalidad (20-67%) y una pobre respuesta a las terapias antifúngicas.

A la fecha, el conocimiento sobre los factores de virulencia que le permiten a este organismo colonizar y dañar tejidos en el hospedador es extremadamente limitado, reportándose solo la presencia de actividad proteolítica, de lipasas, fosfolipasas y la capacidad de formar biopelículas; sin tener asociados genes que codifiquen para estas características fenotípicas. 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 *C. albicans*, *Candida tropicalis* y *Candida parapsilosis*. El genoma de *C. krusei* ya ha sido secuenciado y la información liberada, y nuestro grupo de trabajo ya ha realizado y publicado este tipo de ejercicios usando el genoma de otros hongos de relevancia médica.

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, formación de biopelículas, 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 la edición del gen blanco en *C. krusei*, mediante la técnica de CRISPR-CAS9.

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

Objetivo general

Analizar los genes que codifiquen factores de virulencia dentro del genoma de *C. krusei*.

Objetivos particulares

1. Identificar posibles genes que codifiquen para ortólogos de factores de virulencia dentro del genoma de *C. krusei*.
2. Generar *in silico* las construcciones para la edición 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 *C. krusei* y la generación *in silico* de construcciones para la edición 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 *C. krusei*.

Resultados esperados

Una base de datos que enliste los posibles factores de virulencia identificados dentro del genoma de *C. krusei*, con sus correspondientes valores bioinformáticos que validen las propuestas. Diseño *in silico* de una estrategia para la edición de por lo menos uno de los genes identificados. Predicción de los resultados moleculares esperados, después de aplicarse la metodología de CRISPR-CAS9 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>C. krusei</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>C. krusei</i> .		✓	✓	✓	✓	
Familiarización con la técnica de CRISPR-CAS9.	✓					
Diseño de oligonucleótido iniciadores y generación <i>in silico</i> del DNA recombinante.				✓		
Predicción de resultados moleculares esperados de la manipulación genética de <i>C. krusei</i> .				✓	✓	
Escritura del reporte final de la investigación				✓	✓	✓



Héctor Manuel Mora Montes
Responsables del proyecto