



IDENTIFICAÇÃO DE EPÍTOPOS IMUNOGÊNICOS EM ADESINAS FÚNGICAS DE *Cryptococcus neoformans* E *Trichosporon asahii* POR VACINOLOGIA REVERSA

GONCALVES, Natalia Sandi^{1,2}. SILVA, Rodrigo Nunes Rodrigues³. PADOVAN, *Ana Carolina Barbosa^{1,2}

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Departamento de Micologia, UFPE (Universidade Federal de Pernambuco), Recife, PE.

² LABioMol: Laboratório de Biologia Molecular de Microrganismos, Departamento DE Microbiologia E Imunologia, UNIFAL-MG (Universidade Federal de Alfenas), Alfenas, MG.

³ Laboratório de Tecnologia Imunológica Bio-Manguinhos, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ.

*Autor correspondente: natalia.sandi@ufpe.br

Introdução: *Cryptococcus* spp. e *Trichosporon* spp. são patógenos fúngicos leveduriformes do filo Basidiomycota causadores de meningoencefalite, pneumonias, e doenças disseminadas. Há relatos de isolados resistentes à anfotericina B e fluconazol e alta expressão de virulência, como presença de glicuronoxilomanana e adesinas na superfície celular. A primeira promove a evasão do sistema imune, enquanto a segunda atua na formação de biofilmes em diferentes superfícies. Além da importância no contexto de colonização e infecção, as adesinas têm sido investigadas na estimulação imunológica, tornando-se promissora a busca por tais proteínas com potencial imunogênico para a proposição de vacinas. **Objetivo:** Identificar *in silico* epítopos de adesinas das famílias das floculinas e manoproteínas de *C. neoformans* e *T. asahii* como alvos da resposta imune celular e humoral com potencial de serem candidatos vacinais. **Método:** Foi realizada uma busca na literatura por adesinas de *C. neoformans* e as sequências proteicas foram analisadas na ferramenta tBLASTn ($\geq 50\%$) para buscar sequências homólogas no proteoma de *T. asahii*. Os bancos de dados Uniprot e FungiDb, e softwares PredictProtein, SignalP-6.0, TMHMM - 2.0, e NetGPI, foram utilizados para reunir informações sobre as características das proteínas, para selecionar apenas aqueles peptídeos que estivessem expostos na superfície celular e longe de regiões conflitantes (regiões de peptídeo sinal, âncoras GPI e hélices Transmembranas). A imunogenicidade das proteínas e dos epítopos foi avaliada no programa Vaxijen 2.0 ($\geq 0,5$). Para busca de

epítomos de células T foram utilizados os programas Tepitool e MHCbinding, e para epítomos B, os programas ABCpred, BcPred, BepiPred 1.0, BCEPred, e ElliPro. Alergenicidade, toxicidade e imunorreatividade dos epítomos foram avaliadas nos AllerTop, ToxinPred e ProteoMapper. A conservação dos epítomos nas proteínas homólogas foi verificada através do Conservancy Analysis. Para a seleção dos epítomos mais promissores, foram utilizados os critérios: estar expostos na superfície celular fúngica; serem imunogênicos; terem conservação $\geq 50\%$ entre as proteínas de ambos os patógenos; reconhecimento pelo maior número de HLAs humanos e ao menos um de modelos murinos (C57/bl e Balb/c); não estar em regiões de conflito; não apresentar toxicidade, alergenidade, ou semelhança com proteínas humanas ou murinas. **Resultados:** Na literatura foram encontradas 10 adesinas das famílias das manoproteínas e floculinas de *C. neoformans*, sendo elas: MP84p, MP88p, MP98p, CFL1p, CFL105p, CPL1p, CPM1p, DHA1p e DHA2p. Foi possível encontrar sequências proteicas homólogas em *T. asahii* com cobertura de 52% a 84% e identidade de 32% a 73%. Apenas duas proteínas eram não-imunogênicas: CFL1 e DHA2. As predições retornaram nove epítomos potenciais de células T e quatro de células B. Utilizando os critérios de seleção, foram escolhidos quatro peptídeos sendo estes: Epítomo B MP88p; conservação 66.67%; score 0.9370. Epítomo B CMP1p; conservação 66.67%; score 1.2904. Epítomo T MP88p; score 1,0408; 8 HLA's. Epítomo T CMP1p; score 1,1879; 6 HLA's. **Conclusão:** As manoproteínas e floculinas de *C. neoformans* com função de adesinas tiveram correspondentes homólogos em *T. asahii*. Ainda, foi possível determinar epítomos imunogênicos a partir dessas proteínas que serão testadas *in vivo* quanto a capacidade imunoestimulatória para proteção das infecções fúngicas invasivas ou disseminadas causadas pelos basidiomicetos oportunistas.

Palavras-chave: *Cryptococcus neoformans*; *Trichosporon asahii*; Vacinas Fúngicas; Vacinologia Reversa; Adesinas Fúngicas; Predição de Epítomos.