



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR**



**DISCIPLINA: Curso prático de silenciamento gênico de *Paracoccidioides* spp.**

**COORDENADORES: Dra. Maristela Pereira, Dra. Célia Maria de Almeida Soares**

**DOCENTES: Dra. Maristela Pereira, Dra. Célia Maria de Almeida Soares, Dr. Relber Aguiar Gonçales, Dra. Mariana Vieira Tomazett e Dr. Juliano Domirace Paccez**

**CARGA HORÁRIA POR DOCENTE: 96 horas**

**Nº DE CRÉDITOS: 6**

### **EMENTA**

No curso serão apresentados métodos de transformação genética; ferramentas voltadas à construção de vetores e suas finalidades; diferentes metodologias de co-cultivo; aspectos da estabilidade mitótica; integração do T-DNA ao genoma de *Paracoccidioides* spp.; técnicas de caracterização e armazenamento dos transformantes.

### **OBJETIVOS**

- Adquirir conceitos críticos sobre diferentes métodos de transformação genética
- Aplicar ferramentas voltadas à construção de vetores e suas finalidades
- Analisar diferentes metodologias de co-cultivo
- Compreender de forma crítica aspectos da estabilidade mitótica
- Analisar testes confirmatórios de integração do T-DNA ao genoma de *Paracoccidioides* spp.
- Explorar técnicas de caracterização e armazenamento dos transformantes

### **CONTEÚDO PROGRAMÁTICO**

- 1) Conceitos básicos aplicados à manipulação genética de fungos.
- 2) Construção dos vetores através dos softwares *Ape* e *GeneRunner*.
- 3) Manutenção de *Paracoccidioides* spp. e meios de cultivo
- 4) Metodologias aplicadas ao co-cultivo de *Paracoccidioides* spp. e *Agrobacterium tumefaciens*.
- 5) Estabilidade mitótica: prós e contras, primeiros passos.

- 6) Caracterização dos mutantes através da reação em cadeia da polimerase quantitativa-qualitativa.
- 7) Abordagens de metodologias práticas para caracterização dos mutantes e experimentos futuros com foco em publicações.
- 8) Apresentação de seminário/projeto sobre um gene alvo.

## REFERÊNCIAS

1. Woods, J.P., E.L. Heinecke, and W.E. Goldman, *Electrotransformation and expression of bacterial genes encoding hygromycin phosphotransferase and beta-galactosidase in the pathogenic fungus Histoplasma capsulatum*. Infect Immun, 1998. **66**(4): p. 1697-707.
2. Rappleye, C.A., J.T. Engle, and W.E. Goldman, *RNA interference in Histoplasma capsulatum demonstrates a role for alpha-(1,3)-glucan in virulence*. Mol Microbiol, 2004. **53**(1): p. 153-65.
3. Zupan, J.R. and P. Zambryski, *Transfer of T-DNA from Agrobacterium to the plant cell*. Plant Physiol, 1995. **107**(4): p. 1041-7.
4. Lacroix, B., et al., *A case of promiscuity: Agrobacterium's endless hunt for new partners*. Trends Genet, 2006. **22**(1): p. 29-37.
5. Marion, C.L., et al., *An alpha-(1,4)-amylase is essential for alpha-(1,3)-glucan production and virulence in Histoplasma capsulatum*. Mol Microbiol, 2006. **62**(4): p. 970-83.
6. Leal, C.V., et al., *Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of Paracoccidioides brasiliensis*. Med Mycol, 2004. **42**(4): p. 391-5.
7. Freitas, M.S., et al., *Paracoccin Induces M1 Polarization of Macrophages via Interaction with TLR4*. Front Microbiol, 2016. **7**(1003).
8. Almeida, A.J., et al., *Towards a molecular genetic system for the pathogenic fungus Paracoccidioides brasiliensis*. Fungal Genet Biol, 2007. **44**(12): p. 1387-98.
9. Fernandes, F.F., et al., *Impact of Paracoccin Gene Silencing on Paracoccidioides brasiliensis Virulence*. MBio, 2017. **8**(4): p. 00537-17.
10. Torres, I., et al., *Inhibition of PbGP43 expression may suggest that gp43 is a virulence factor in Paracoccidioides brasiliensis*. PLoS One, 2013. **8**(7).
11. Menino, J.F., A.J. Almeida, and F. Rodrigues, *Gene knockdown in Paracoccidioides brasiliensis using antisense RNA*. Methods Mol Biol, 2012. **845**: p. 187-98.
12. Menino, J.F., et al., *P. brasiliensis virulence is affected by SconC, the negative regulator of inorganic sulfur assimilation*. PLoS One, 2013. **8**(9).
13. Gonçales, R.a., Vieira, VC; Ricci-Azevedo, R; Fernandes, FF; Thomaz, SMO; Carvalho, AA; Vendruscolo, PE; Cunha, CA; Roque-Barreira, MC and Rodrigues, FJ, *Paracoccin overexpression in Paracoccidioides brasiliensis reveals the influence of chitin hydrolysis on fungal virulence and host immune response*. BioRxiv, 2018.