

OBTENÇÃO DE MUTANTES *HOS2Δ* EM *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS*, POR MEIO DA TÉCNICA DE CRISPR/CAS9 SUICIDA

LYS SOUSA PARENTE; ALINE KÖNIG; MARCIO JOSÉ POÇAS-FONSECA; CÍNTIA MARQUES COELHO

Introdução: *Cryptococcus neoformans* é uma levedura, considerada patógeno oportunista, que infecta em maioria indivíduos imunossuprimidos. Mesmo com tratamento utilizando antifúngicos existe uma alta taxa de mortalidade em pacientes portadores de HIV/AIDS. Mais preocupante, considerando a recente pandemia de SARS-CoV-2, é a possibilidade de infecção simultânea do patógeno estudado e do COVID-19. Recentemente, foi demonstrado que inibidores químicos de histonas desacetilase atenuam fenótipos de virulência de *C. neoformans*, mas não se sabe qual o papel específico de genes dessas vias de regulação na virulência e no silenciamento epigenético. **Objetivos:** Esse estudo visa produzir linhagens mutantes de *C. neoformans* para o gene *HOS2*, uma histona desacetilase de classe II, utilizando a técnica de CRISPR/Cas9 suicida, para melhor entender os aspectos epigenéticos e assim buscar formas de tratamento mais avançados para a criptococose. **Metodologia:** Foi sintetizado plasmídeo modificado para funcionamento do sistema CRISPR/Cas9 suicida, com gRNA e DNA doador contendo cassete de expressão para resistência a Higromicina direcionado ao gene *HOS2*. Uma linhagem JF289XH99 C5 foi então transformada, as colônias resultantes foram selecionadas com Higromicina, e, foi realizado teste de estabilidade e PCRs. Para confirmar a inserção precisa os amplicons foram enviados para sequenciamento. **Resultados:** A transformação resultou em 22 colônias que sobreviveram em meio seletivo, 4 das quais tiveram inserção em local correto, de acordo com a análise de PCR. Desses transformantes, 3 foram enviados para sequenciamento, colônias 1, 11 e 16, demonstrando sucesso da inserção do cassete de expressão para resistência a higromicina no gene alvo. **Conclusão:** A transformação foi bem sucedida, e em seguida análises serão realizadas para verificar o potencial papel desse gene na via epigenética de silenciamento e nos atributos de virulência deste fungo.

Palavras-chave: Crispr/cas 9, Desacetilase de histona, Epigenética, Virulência, Transformação.