

XU Congresso
Fluminense
de Iniciação
Científica e Tecnológica

28^o

Encontro de
Iniciação
Científica
da UENF

20^o

Circuito de
Iniciação
Científica do
IFFluminense

16^a

Jornada de
Iniciação
Científica
da UFF



U III Congresso
Fluminense de
Pós-Graduação

23^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UENF

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
do IFFluminense

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UFF

Peptídeo bioinspirado no γ -core da defensina de *Vigna unguiculata* (feijão-de-corda) e estudo sobre a funcionalidade mitocondrial de células da levedura oportunista *Candida tropicalis*

Marilucia de Carvalho Ribeiro, Douglas Ribeiro Lucas, Valdirene Moreira Gomes, André de Oliveira Carvalho

O controle de doenças fúngicas tem sido um grande desafio devido à resistência destes microrganismos aos antifúngicos disponíveis, indicando a necessidade urgente de desenvolvimento de novos antifúngicos. Neste sentido, diversos estudos apontam os peptídeos antimicrobianos (AMPs, do inglês *antimicrobial peptides*) como moléculas promissoras para o controle desses agentes patogênicos. Os AMPs são pequenas moléculas anfipáticas de natureza proteica que apresentam forte atividade antimicrobiana e seletividade para células microbianas. Em um estudo prévio do grupo foram projetados três peptídeos com atividade melhorada sobre leveduras oportunistas e foi investigado o seu mecanismo de ação. Para o peptídeo D-A_{36,42,44}R_{37,38}Y₃₂₋₄₆VuDef (D-RR) foi mostrado que ele induz morte celular regulada independente de metacaspases em *Candida tropicalis*. O objetivo deste projeto é a análise da atividade do D-RR em células de *C. tropicalis* com foco na interferência de D-RR na funcionalidade mitocondrial. O potencial de membrana mitocondrial foi analisado por microscopia óptica de fluorescência com a sonda JC-1 incubada com 40.000 células/ml em meio Sabouraud nos tempos de 40 e 45 min e posteriormente aplicado D-RR e incubado por 5 e 10 min, completando o tempo total de incubação. Controles foram feitos na ausência de D-RR e com TRITON X-100 a 1%. Em seguida para analisar a atividade de NAD desidrogenases mitocondriais, 80.000 células/ml de *C. tropicalis* tratadas com D-RR por 5, 10, 15, 20 e 30 min foram incubadas com o reagente WST-1 e duraquinona como agente acoplador de elétrons e analisado em leitor de ELISA. Também foi feita a análise do tamanho celular das células de *C. tropicalis* tratadas com D-RR nos tempos de 5 e 10 min por microscopia óptica usando a ferramenta *length* do software Axion vision, Zeiss porque o encolhimento celular é uma característica de morte celular regulada. Os resultados obtidos mostram que D-RR hiperpolariza a membrana mitocondrial a partir de 10 min indicado pelo deslocamento da razão vermelho/verde da sonda JC-1 para o vermelho. A hiperpolarização da membrana mitocondrial foi também confirmada pela atividade das NAD desidrogenases que mostraram aumento de 250 a 525% dentro do tempo de 5 a 30 min. As análises da medição indicaram uma redução de tamanho das células tratadas com D-RR. Para 5 min foi observado redução de 7,3 e 9,7%, para 10 min foi observado uma redução de 19,8 e 11,7% para os eixos longitudinal e transversal, respectivamente. Conclui-se que a disfunção mitocondrial e o encolhimento celular estão entre os primeiros eventos disparados por D-RR na célula que está morrendo.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



XU Congresso
Fluminense
de Iniciação
Científica e Tecnológica

28^o

Encontro de
Iniciação
Científica
da UENF

20^o

Circuito de
Iniciação
Científica do
IFFluminense

16^a

Jornada de
Iniciação
Científica
da UFF



UIII Congresso
Fluminense de
Pós-Graduação

23^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UENF

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
do IFFluminense

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UFF

Bioinspired peptide in the defensin γ -core of *Vigna unguiculata* (cowpea) and study on the mitochondrial functionality of cells of the opportunistic yeast *Candida tropicalis*

Marilucia de Carvalho Ribeiro, Douglas Ribeiro Lucas, Valdirene Moreira Gomes, André de Oliveira Carvalho

Fungal disease control has been a major challenge due to the resistance of these microorganisms to available antifungals, indicating the urgent need for the development of new antifungals. In this regard, several studies point to antimicrobial peptides (AMPs) as promising molecules for the control of these pathogens. AMPs are small, amphipathic protein molecules that exhibit strong antimicrobial activity and selectivity towards microbial cells. In a previous study by the group, three peptides with improved activity against opportunistic yeasts were designed, and their mechanism of action was investigated. For the peptide D-A_{36,42,44}R_{37,38}V₃₂₋₄₆VuDef (D-RR), it was shown that it induces regulated cell death independent of metacaspases in *Candida tropicalis*. The objective of this project is to analyze the activity of D-RR in *C. tropicalis* cells, with a focus on the interference of D-RR in mitochondrial functionality. Mitochondrial membrane potential was analyzed by fluorescence optical microscopy using the JC-1 probe incubated with 40,000 cells/mL in Sabouraud medium at 40 and 45 min, followed by the application of D-RR and incubation for 5 and 10 min, completing the total incubation time. Controls were performed in the absence of D-RR and with 1% TRITON X-100. To analyze the activity of mitochondrial NAD dehydrogenases, 80,000 cells/mL of *C. tropicalis* treated with D-RR for 5, 10, 15, 20, and 30 min were incubated with the WST-1 reagent and duroquinone as an electron-coupling agent, and analyzed using an ELISA reader. Additionally, the cell size analysis of *C. tropicalis* cells treated with D-RR for 5 and 10 min was conducted using optical microscopy with the length tool of the Axion Vision software from Zeiss, as cell shrinkage is a characteristic of regulated cell death. The obtained results show that D-RR hyperpolarizes the mitochondrial membrane after 10 min, as indicated by the shift in the red/green ratio of the JC-1 probe towards red. The hyperpolarization of the mitochondrial membrane was also confirmed by the activity of NAD dehydrogenases, which showed an increase of 250% to 525% within the time range of 5 to 30 min. Measurement analyses indicated a reduction in cell size in D-RR treated cells. A reduction of 7.3% and 9.7% was observed after 5 min, and a reduction of 19.8% and 11.7% was observed for the longitudinal and transversal axes, respectively, after 10 min. It can be concluded that mitochondrial dysfunction and cell shrinkage are among the early events triggered by D-RR in a dying cell.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

