

## Desenho e padronização de novos primers para os genes ERG1, ERG3, ERG11 e ERG25 relacionados com a síntese de ergosterol em *Candida albicans*

Cláudia Carolina JORDÃO, Juliana Cabrini CARMELLO, Luana Mendonça Dias SANTANA, Marlise Inêz KLEIN, Ana Cláudia PAVARINA

O objetivo deste estudo foi desenhar e padronizar in vitro a especificidade de primers para os genes ERG1, ERG3, ERG11 e ERG25 relacionados com a síntese de ergosterol, que é um importante componente da membrana celular de *Candida* spp. A análise in silico foi realizada através de uma pesquisa no PubMed de artigos com seqüências de primers para os genes de interesse. A análise das estruturas secundárias foi realizada usando Mfold. Os primers que não apresentaram características satisfatórias (ausência de estruturas secundárias, Tm não discrepantes entre a seqüência forward e reverse e tamanho inadequado) após análise foram desenhados usando o programa Oligo Explorer™ através de seqüências obtidas a partir do Pubmed (seqüência FASTA). Os primers foram sintetizados e testados in vitro pela técnica de PCR utilizando um painel de DNA genômico de diferentes espécies de *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, e *C. tropicalis*), com seus produtos visualizados em gel de agarose. Reações de qPCR foram realizadas para determinar a concentração ótima e a eficiência dos primers. Em relação a especificidade, os primers para os genes ERG1 e ERG3 foram específicos para *C. albicans* e *C. dubliniensis*. Já o primer para o gene ERG25 foi específico para todas as espécies de *Candida* testadas, exceto *C. glabrata*. O primer para o gene ERG11 foi específico para todas as espécies testadas. Após a otimização, todos os primers apresentaram um único pico, coeficiente de correlação de  $\geq 1$  e eficiência de reação de qPCR de 90-110%, com slope de  $\leq -3.3$ . Portanto, esses primers são adequados para análises de expressão gênica in vitro e in vivo, desde que não apresente contaminação com outras espécies de *Candida*.

**DESCRITORES:** *Candida albicans*; DNA Primers; Ergosterol

**APOIO FINANCEIRO:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq