



PROSPECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO *IN SILICO* DO GENOMA MITOCONDRIAL DE FUNGOS PATOGENICOS DO GÊNERO *MALASSEZIA* UTILIZANDO DADOS DE SEQUENCIAMENTO PÚBLICOS

Gabriel Barbosa Huszcz¹, Rafaela de Campos Oliveira², Igor Henrique Rodrigues-Oliveira³, David Aciole Barbosa⁴, Rubens Pasa⁵, Karine Frehner Kavalco⁶, Daniela Leite Jabes⁷, Luiz R. Nunes⁸, Fabiano B. Menegidio⁹.

1. Estudante do curso de Medicina; e-mail: gabriel.huszcz@gmail.com;
2. Mestranda no PPG em Engenharia Biomédica da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: maxsw.rc@gmail.com;
- 3- Mestrando no Laboratório de Ecologia e Genética Evolucionar, Universidade Federal de Viçosa;
4. Doutor em Biotecnologia pela Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: aciole.d@gmail.com;
5. Professor, Universidade Federal de Viçosa; e-mail: rpasa@ufv.br;
6. Professora, Universidade Federal de Viçosa; e-mail: kavalco@ufv.br;
7. Professora da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: danielajabes@umc.br;
8. Professora orientador do PPG em Biotecnologia da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: nunes1212@gmail.com
9. Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: fabianomenegidio@umc.br;

Área do conhecimento: Genética Molecular e de Microrganismos.

Palavras-chave: *Malassezia vespertilionis*, *Malassezia dermatis*, *Malassezia nana*, *Malassezia equina*, *Malassezia caprae*.

INTRODUÇÃO

Os fungos do gênero *Malassezia* são os organismos eucariotos mais prevalentes na microbiota da pele humana (BOEKHOUT *et al.*, 2010; WU *et al.*, 2015). Utilizam lipídios como propriedade fisiológica para seu crescimento no meio; com exceção da espécie *M. pachydermatis*, todas as espécies são dependentes de um meio lipofílico (BOEKHOUT *et al.*, 2010, p. 2). O gênero *Malassezia* é encontrado em várias partes do corpo, causando doenças de pele comuns, como a pitíriase versicolor e Dermatite Seborreica, sua alta adaptabilidade ao corpo humano e prevalência entre os outros eucariontes, a torna única. Porém, mesmo com muitos genomas de fungos do gênero disponíveis, mais informações biomoleculares sobre esses organismos são necessárias. Atualmente, das 18 espécies conhecidas no gênero, apenas o mitogenoma dos fungos *Malassezia furfur*, *Malassezia globosa* CBS 7966, *Malassezia restricta* KCTC 27527, *Malassezia restricta* CBS 7877 e *Malassezia sympodialis* ATCC 42132, estão disponíveis na plataforma da *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), com acesso público. Muitos mecanismos biomoleculares estão relacionados com o gênero malassezia, que podem ter ligação com a etiologia de infecções ou com mecanismos fisiológicos da microbiota. Um dos exemplos desses mecanismos biomoleculares foi publicado pelo nosso grupo de pesquisa relatando que a caquexia pode estar envolvida com disbioses da microbiota do trato gastrointestinal, inclusive da microbiota fúngica, incluindo espécies do gênero *Malassezia* (JABES *et al.*, 2020). Apesar da caquexia

ser mais comum na presença de cânceres, muitas infecções podem causar este quadro. O sequenciamento dos fungos da microbiota pode melhorar a compreensão de mecanismos indutores mais complexos (GENTON *et al.*, 2019). O sequenciamento de mitogenoma fúngico é de extrema relevância nas áreas biológicas, uma vez que serve de marcador genético fundamental em muitas áreas de pesquisa, incluindo genética de populações, biologia evolutiva, filogenética e filogeografia, estudos de biodiversidade e ecologia molecular. Assim, devido a relevância do gênero *Malassezia* na microbiota humana, a análise de tais mitogenomas e sua prospecção mostram-se necessárias, o que pode contribuir na análise filogenética e perfil biológico do gênero. Pode contribuir com pesquisas futuras relacionadas às infecções por fungos patogênicos desta espécie, inclusive análise do microbioma e na elaboração de novos medicamentos anti-fúngicos.

OBJETIVOS

Assim, o presente projeto tem por objetivo a montagem de novos genomas mitocondriais de diferentes espécies do gênero *Malassezia* utilizando dados públicos de sequenciamento WGS disponíveis no banco de dados do NCBI SRA.

METODOLOGIA

A presente análise foi realizada a partir de bibliotecas de Sequenciamento Completo do Genoma (*Whole Genome Sequencing* ou WGS) do gênero *Malassezia* disponíveis no banco de dados SRA (Sigla para Sequence Reads Archive) do NCBI para as espécies *Malassezia vespertilionis*, *Malassezia dermatis*, *Malassezia nana*, *Malassezia equina* e *Malassezia caprae*. Os dados brutos do sequenciamento foram importados para a plataforma Galaxy Europe (<https://usegalaxy.eu/>) e montados a partir da ferramenta NOVOplasty v4.3.1, usando como semente o genoma mitocondrial previamente sequenciado da *M. japonica* (KY911090.1). Os genomas mitocondriais foram anotados usando o MitoS2 (<http://mitos2.bioinf.uni-leipzig.de/>). Para validação dos resultados obtidos, a anotação dos 34 mitogenomas de 9 espécies foi realizada a partir do processo descrito com intuito de validar o processo descrito acima. Os mapas circulares dos mitogenomas foram montados a partir da ferramenta GenomeVx (<http://wolfe.ucd.ie/GenomeVx/>) (CONANT; WOLFE, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Caracterizamos o mitogenoma de cinco espécies do gênero *Malassezia*, *M. dermatis*, *M. nana*, *M. equina*, *M. caprae* e *M. vespertilionis*, com comprimento variando de 27,284 pares de bases (pb) a 40,970pb. Entre os genomas sequenciados, *M. equina* se torna o segundo menor mitogenoma do gênero, atrás da *M. japonica* já previamente descrita. O índice CG de

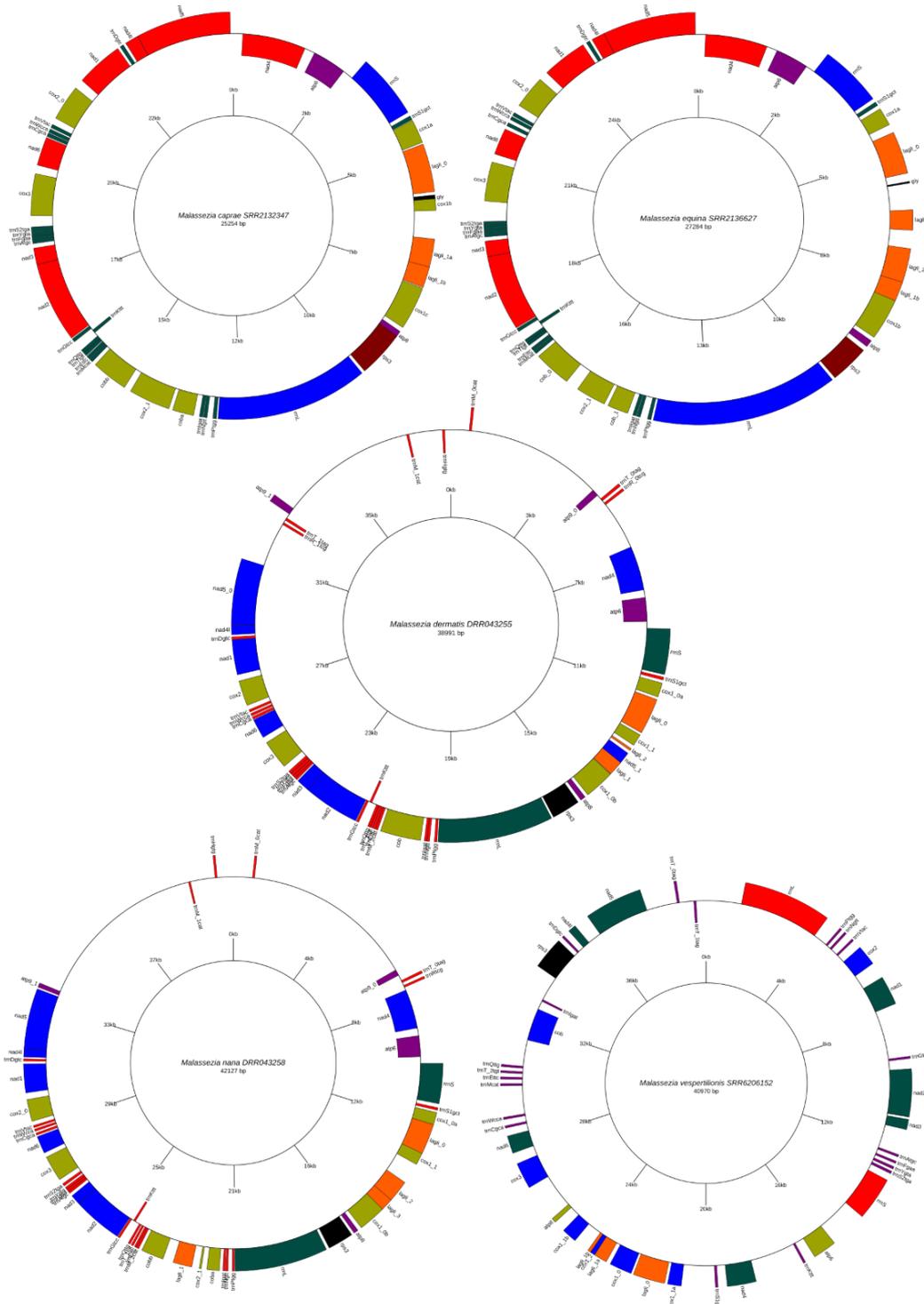
23.4% a 37.7%, tendo a *M. caprae* o maior índice, os dados dos mitogenomas estão apresentados na Tabela 1, e o genoma circular na Figura 1.

Tabela 1. Características dos mitogenomas montados.

Espécie	Tamanho	GC (%)	PCG	tRNA	rRNA	NCBI ID
<i>Malassezia dermatis</i>	38,991 pb	31.6	15	25	2	DRR042689
<i>Malassezia nana</i>	42,127 pb	31.9	15	23	2	DDR043258
<i>Malassezia equina</i>	27,284 pb	32.9	14	18	2	SRR2136627
<i>Malassezia caprae</i>	25,254 pb	33.7	14	18	2	SRR2132347
<i>Malassezia vespertilionis</i>	40,970 pb	23.4	14	20	2	SRR6206152

GC(%) = porcentagem de guanina citosina; **PCG** = genes potencialmente codificadores; **NCBI** = National Center for Biotechnology Information; **pb** = pares de bases.

Figura 1. Mapa do genoma mitocondrial das espécies: *Malassezia caprae*, *Malassezia equina*, *Malassezia dermatis*, *Malassezia nana* and *Malassezia vesperilionis*.



Nas últimas décadas, o estudo sobre o genoma de microrganismos vem aumentando, especialmente por conta de doenças que porventura eles podem causar. Outrossim, houve a introdução de novas espécies, como: *M. globosa*, *M. obtusa* e *M. restricta*, a partir de análises mais detalhadas sob seu genoma, sua morfologia e atividade metabólica, o que mudou as perspectivas das doenças de pele (SCHLOTTFELDT *et al.*, 2002). Atualmente, o gênero

Malassezia é diverso e compreende 22 espécies, com numerosas cepas funcionalmente distintas (THEELEN *et al.*, 2019). Muitas espécies de *Malassezia* são causadoras de doenças em humanos, causando desde lesões com invasão tecidual, a infecções sistêmicas, mais raras e graves. Em alguns casos essas infecções podem ter um aspecto imunológico indireto envolvido, como ocorre em casos de dermatite seborreica, com mecanismos obscuros de patogenicidade. A PV é uma infecção superficial da epiderme, comum em diversas áreas geográficas, especialmente nos trópicos. A infecção é causada principalmente pela *Malassezia globosa*, porém outras espécies vêm sendo envolvidas com a doença, inclusive *M. furfur*, a primeira descrição da PV em humanos (BOEKHOUT *et al.*, 2010, p. 176-186; OLIVEIRA *et al.*, 2014, p. 37-40). A caracterização do mitogenoma dos fungos pode colaborar com a filogenia dos mesmos, assim como auxiliar no entendimento no mecanismo fisiológicos dos mesmos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O método utilizado na montagem de genomas mitocondriais mostrou-se satisfatório nas espécies *Malassezia vespertilionis*, *Malassezia dermatis*, *Malassezia nana*, *Malassezia equina* and *Malassezia caprae*, e pode ser um mecanismo satisfatório para avaliação taxonômica e no entendimento de mecanismos biológicos e fisiopatológicos das espécies do gênero.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOEKHOUT, T. *et al.* **Malassezia and The Skin**. Berlim, Alemanha, 1. ed. Springer, 2010. 319 p.

CONANT, G.C; WOLFE, K.H. GenomeVx: simple web-based creation of editable circular chromosome maps. **Bioinformatics**, v.24, n.6, p.861-2. doi: 10.1093/bioinformatics/btm598, Acesso em 23 junho de 2022.

GENTON, L. *et al.* Targeting the Gut Microbiota to Treat Cachexia. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 9, p. 305, Set. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC31572686/>. Acesso em 10 Maio 2021.

JABES, D.L. *et al.* Fungal Dysbiosis Correlates with the Development of Tumor-Induced Cachexia in Mice. **Journal of fungi**, Basel, Switzerland, v. 6, n. 4, p. 364, Dec. 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2309-608X/6/4/364>. Acesso em: 08 maio de 2021.

NCBI. **The UniVec Database**. 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/vecscreen/univec/>. Acesso em: 13 maio 2021.

OLIVEIRA, J. C. **Tópicos em Micologia Médica** / Jeferson Carvalhaes de Oliveira. Rio de Janeiro, 4. ed. 2014. 230 p. Disponível em: https://so.controllab.com/pdf/topicos_micologia_4ed.pdf.

SCHLOTTFELDT, F. S. *et al.* Reclassificação taxonômica de espécies do gênero *Malassezia*: revisão da literatura sobre as implicações clinicolaboratoriais. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 3, p. 199-204, Jul. 2002. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442002000300006&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 05 maio de 2021.

THEELEN, B. *et al.* Ecologia, fisiopatologia e tratamento da Malassezia. **Med. Mycol.** v. 56, S10 – S25. 2018. doi: 10.1093 /mmy /myx134

WU, G. *et al.* Genus-Wide Comparative Genomics of Malassezia Delineates Its Phylogeny, Physiology, and Niche Adaptation on Human Skin. **PLoS genetics**, v. 11, n. 11, nov. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC26539826/>. Acesso em: 09 maio 2021.