

DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLOS PARA GERAÇÃO DE GAMETÓCITOS DE *PLASMODIUM KNOWLESI* IN VITRO

Autores: Ana Clara de Oliveira Gomes, Rafaela Xavier Espinosa, Milena Alves Cavalcante, Brendha Maria Rangel dos Santos, Thafne Plastino Astro, Roberto Rudge de Moraes Barros

Disciplina de Biologia Celular - Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia / Escola Paulista de Medicina - Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP

Espécies de *Plasmodium* possuem um ciclo de vida complexo, que inclui estágios distintos em um hospedeiro vertebrado e no hospedeiro invertebrado. Gametócitos são formas sexuadas, responsáveis pela transmissão do mamífero para mosquitos. As espécies causadoras de malária humana possuem diferenças marcantes no desenvolvimento dos gametócitos, que apresentam tempo de maturação e formatos distintos, dependendo da espécie. O conhecimento atual da biologia de gametócitos foi gerado principalmente utilizando culturas in vitro de *Plasmodium falciparum*, mas pouco se sabe sobre as outras espécies. *Plasmodium knowlesi* é a única outra espécie de malária humana que pode ser cultivada in vitro, porém não existem protocolos estabelecidos para o desenvolvimento de gametócitos desta espécie. OBJETIVOS: O presente estudo tem o objetivo de estabelecer protocolos de indução de gametócitos previamente estabelecidos em *P. falciparum* e adaptá-los para *P. knowlesi*: protocolo de “crash” em placa e protocolo de depleção de LisoPC. Análises in sílico utilizando dados de transcriptoma de células únicas (scRNAseq), obtidos em nosso laboratório, serão utilizados para identificar e caracterizar gametócitos de *P. knowlesi*. Também pretendemos desenvolver uma linhagem transgênica de *P. knowlesi* capaz de gerar gametócitos in vitro de maneira induzida. MATERIAIS E MÉTODOS: Protocolos de indução de gametócitos serão realizados utilizando *P. knowlesi* cepa H e linhagens NF54 e DD2 de *P. falciparum*. Para a geração da linhagem transgênica, será utilizado o Plasmídeo pvcen-nanoluc modificado com o gene GDV-1 com expressão controlável com o sistema DD2-shield. RESULTADOS: Obtivemos o desenvolvimento de gametócitos de *P. falciparum* utilizando o protocolo de “crash”. No momento estamos replicando o protocolo em *P. knowlesi* e desenvolvendo os plasmídeos recombinantes para geração da linhagem transgênica.