

Análise *in silico* dos genes e da sequência predita de aminoácidos das subunidades catalíticas da proteína quinase dependente de cAMP no fungo *Paracoccidioides brasiliensis*.

Arthur de Carvalho e Silva¹, Silvia Maria Salem Izacc²

Universidade Federal de Goiás, 74690-903, Brasil

arthur_carvalhos@hotmail.com silviaizacc@icb.ufg.br

PALAVRAS-CHAVE: *P. brasiliensis*, PKA, análise *in silico*, BLAST

1. Introdução

O fungo *Paracoccidioides brasiliensis* é agente etiológico da Paracoccidioidomicose (PCM). O fungo é termodimórfico, cresce como levedura à temperatura de 36-37°C e apresenta-se na forma de micélio à temperatura de 22-26°C. Após inalação de seus propágulos, causa infecção primária nos pulmões, a partir dos quais se dissemina para o organismo através da circulação sanguínea e linfática, causando infecção sistêmica.

A via de sinalização do cAMP (AMP-cíclico) tem se mostrado importante no controle de transições morfológicas e de patogenicidade de vários fungos (Borges-Walmsley e Walmsley, 2000), como, por exemplo, *Candida albicans* (Rocha *et al.*, 2001), *C. neoformans* (Alspaugh *et al.*, 2002) e *A. fumigatus* (Liebmann *et al.*, 2003). Vários componentes desta via foram identificados e caracterizados a partir de estudos do transcriptoma de *P. brasiliensis*. Entre eles, estão a adenilato-ciclase Cyr1p, duas subunidades catalíticas de proteína quinase dependente de cAMP (PKA/cAMP), Tpk1p e Tpk2p, subunidade regulatória de proteína quinase dependente de cAMP (Bcy1p) e fosfodiesterase de baixa afinidade (Pde1p).

¹Orientando. Graduando em Farmácia pela Universidade Federal de Goiás

¹Profa. Dra./Orientadora – Laboratório de Biologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás

A via de sinalização cAMP/PKA é importante em diferentes espécies fúngicas. Em *C. neoformans*, a cascata de reações gerada pela via do cAMP é necessária para a formação de cápsula, filamentos e melanina, estruturas consideradas fatores de virulência do *C. neoformans* (Pukkila-Worley e Alspaugh, 2004). Em *S. cerevisiae*, organismo cujos elementos da via cAMP são mais conhecidos, tal cascata de reações é ativada pela privação de nitrogênio e está relacionada com o crescimento celular, metabolismo, resistência ao estresse e aderência ao ágar (Lengeler *et al.*, 2000). Em *H. capsulatum*, foi observado que durante a transição de levedura para micélio (que é dependente de mudança de temperatura de 37°C para 25°C) houve um aumento dos níveis intracelulares de cAMP associado ao aumento da transição morfológica de levedura para micélio (Sacco *et al.*, 1981). Em *P. brasiliensis*, evidências de relação entre a via de sinalização intracelular de cAMP e a mudança de forma do fungo (ligada diretamente à virulência do fungo) foram observadas pela primeira vez em 1985 por Paris e Duran, os quais notaram que cAMP exógeno induzia o processo de filamentação no fungo. Em 2007, Chen e colaboradores concluíram que a mudança morfológica em *P. brasiliensis* é regulada por cAMP através de experimentos baseados em incubações de células do fungo em meio de cultura líquido; um de seus resultados contrastam com o trabalho de Paris e Duran (1985), vez que mostra uma diminuição na transição das células fúngicas após tratamento com dibutiril-cAMP.

2. Objetivos

Em função do exposto, propomos a análise *in silico* dos genes que codificam as subunidades catalíticas da PKA de *P. brasiliensis*, denominados “PAAG_00108.1 *cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit pkaC*” (PKAc1); e “PAAG_03386.1 *cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit*”(PKAc2), através da utilização de diferentes ferramentas de bioinformática.

2.1 Objetivos específicos

Análise estrutural dos genes que codificam as subunidades catalíticas da PKA em estudo e comparação das mesmas em diferentes isolados de *P. brasiliensis*; Comparação da PKA com ortólogas em outros fungos e em humanos, bem como a

comparação entre as duas subunidades; e o estudo de domínios presentes nas subunidades catalíticas.

3. Metodologia

3.1 A análise estrutural dos genes que codificam as subunidades catalíticas da PKA foi feita a partir de estudos sobre o genoma do fungo (disponível em http://www.broadinstitute.org/annotation/genome/paracoccidioides_brasiliensis/MultiHome.html).

3.2 A comparação entre as seqüências de aminoácidos foi feita através da ferramenta *blastP* (disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Essa ferramenta alinha duas seqüências de aminoácidos ou compara uma seqüência de aminoácidos com um banco de dados de escolha (pdb, swissprot) para procurar homologia entre as seqüências analisadas ou entre a seqüência e o banco de dados.

3.3 Foram feitas análises a partir do alinhamento das seqüências preditas de aminoácidos que codificam as duas subunidades catalíticas da PKA em estudo. Para isso, usou-se a ferramenta *clustal* (disponível em <http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2/index.html>).

4. Resultados e discussão

4.1 Análise estrutural dos genes que codificam as duas subunidades catalíticas da PKA de *P. brasiliensis*, com a identificação de íntrons, éxons, motivos, seqüências regulatórias e outras informações relevantes.

A partir de estudos sobre o genoma do fungo, especialmente sobre as subunidades catalíticas da PKA em outros isolados da mesma espécie (Pb03 e Pb18), obtiveram-se informações importantes sobre essas seqüências, as quais estão dispostas na tabela abaixo.

Tabela 1: Sumário das características das subunidades catalíticas das 2 subunidades da PKA de Pb01

Nome	Broad	Descrição	Gene	cDNA	Sequência transcrita	Ítrons	Ortólogo em Pb03	Ortólogo em Pb18
Pb01PKAc1	PAAG00108.1	Subunidade catalítica de proteína quinase dependente de cAMP	1318 nt	1116 nt	372 aa	2	PABG_05134	PADG_07154
Pb01PKAc2	PAAG03386.1	Subunidade catalítica de proteína quinase dependente de cAMP	2812 nt	1884 nt	628 aa	3	PABG_07072	PADG_06441

4.2 Determinação da similaridade/identidade entre as duas seqüências de aminoácidos preditas das duas subunidades catalíticas da PKA de *P. brasiliensis*

A análise foi feita com auxílio da ferramenta de bioinformática *blastP*, através da qual alinhou-se ambas as seqüências de aminoácidos preditas das duas subunidades catalíticas da PKA em estudo. Após análise, obtiveram-se 34% de similaridade entre ambas as seqüências. A similaridade apresentada é relativamente baixa, o que significa que as seqüências, apesar de codificar duas subunidades de uma mesma proteína do fungo em estudo, são, em geral, diferentes. A Figura 1 mostra a comparação entre as duas seqüências, evidenciando suas diferenças através das descontinuidades nele presentes.

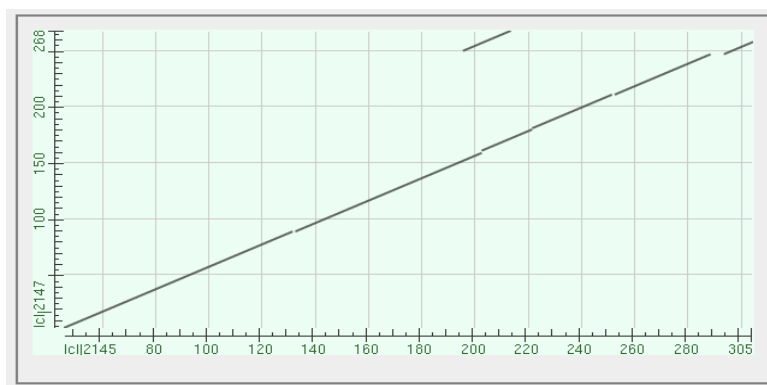


Figura 1: Comparação entre as duas subunidades catalíticas da PKA

4.3 Determinação da similaridade entre as duas subunidades da PKA em estudo e seus ortólogos humanos

Usando a ferramenta de bioinformática *blastN* (disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), concluiu-se que há cerca de 69% de similaridade

entre a subunidade catalítica ‘c1’ da PKA encontrada no fungo *P. brasiliensis* e a mesma subunidade da PKA encontrada em humanos (*Homo sapiens*). A análise é feita a partir do alinhamento das seqüências de nucleotídeos que codificam a proteína em questão (PKA dependente de cAMP). Notou-se identidade entre vários nucleotídeos que compõem os mRNAs que codificam a PKA em ambas as espécies em questão. Há ainda poucos intervalos (*gaps*) observados após o alinhamento (Figura 2A).

```

ref|NM_207518.1| UEGM Homo sapiens protein kinase, cAMP-dependent, catalytic, alpha
(PRKACA), transcript variant 2, mRNA
Length=2490

GENE ID: 5566 PRKACA | protein kinase, cAMP-dependent, catalytic, alpha
[Homo sapiens] (Over 100 PubMed links)

Score = 60.8 bits (66), Expect = 4e-06
Identities = 123/179 (69%), Gaps = 8/179 (4%)
Strand=Plus/Plus

Query 624 TACAGAGACCTAAAGCCAGAGAATCTACTTTTAGATCGATATGG--ACATTTGAAGAITA 681
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 494 TACAGGGACCTGAAGCCGGAGAATCTGCTCATTGACCAGCAGGGCTACATTC--AGGTGA 551

Query 682 CAGATTTTGGATTTCGCGAAGGAAGTCAAGGATATTACATGGACTTTATGCGGGACACCAG 741
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 552 CAGACTTCGGTTTCGCCAAGCGCGTGAAGGGCCGCACCTTGGACCTTGTGCGGCACCCCTG 611

Query 742 ATTATCTGGCGCCGGAGGTAGTTTCGTCA--AAGGGATAACAATATGTCCGTTGACTGGT 798
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 612 AGTACCTGGCCCTGAG--ATTATCCTGAGCAAAGGCTACAACAAGGCCGTGGACTGGT 668

```

Figura 2A: Comparação entre a subunidade ‘c1’ e sua ortóloga em *Homo sapiens*

A subunidade ‘c2’ foi comparada à sua ortóloga presente em *Homo sapiens* e apresentou identidade menor do que aquela observada na comparação entre a subunidade ‘c1’ e sua ortóloga (Figura 2B). Notou-se identidade de 58% e 76% de positivos (presença de aminoácidos diferentes, mas da mesma família). Conclui-se que a subunidade ‘c2’ apresenta menor semelhança com sua ortóloga humana do que a subunidade ‘c1’.

```

> [db]BAA36547.1 | G M AMP-activated protein kinase alpha-1 [Homo sapiens]
Length=550

GENE ID: 5562 PKKA1 | protein kinase, AMP-activated, alpha 1 catalytic subunit
[Homo sapiens] (Over 100 PubMed links)

Score = 350 bits (897), Expect = 1e-95, Method: Compositional matrix adjust.
Identities = 160/275 (58%), Positives = 208/275 (76%), Gaps = 1/275 (0%)

Query 3   RLDQYTSVKILGEGSFGKVKLAVHQASGRQVALKIIIPRRKLLSRDMVGRVDREIQYLQLL 62
++ Y     LG G+FGKYK+ H+ +G +VA+KI+ R+K+ S D+VG++ REIQ L+L
Sbjct 14  KIGHYILGDTLGVGTFGKVKVKGHELTGHKVAVKILMRQKIRSLDVVVGKIRREIQNLKLF 73

Query 63  RHPHIIKLYTVIATKVDIVMVLEYAER-ELFDYLVKRGRCNDEEARKFFQQIICAVEYCH 121
RHPHIIKLY VI+T DI MV+EY ELFDY+ K GR +++E+R+ FQOI+ V+YCH
Sbjct 74  RHPHIIKLYQVISTPSDIFMVMEYVSGGELFDYICKNGRLDEKESRRLFQQIILSGVDYCH 133

Query 122 RHKIVHRDLKPENLLIDKDKNVKIADFGLSNIMTDGNFLKTS CGSPNYAAPEVISGKLYA 181
RH +VHRDLKPEN+L+D N KIADFGLSN+M+DG FL+TSCGSPNYAAPEVISG+LYA
Sbjct 134 RHMVVRDLKPENVLLDAHNNAKIADFGLSNMMSDGEFLRTSCGSPNYAAPEVISGRLYA 193

Query 182 GPEVDVWSCGVILYVLLVVGKLPFDDDIYPALFKKIAAGNFHMP SYISTGAARLIRAMLQV 241
GPEVD+WS GVILY LL G LPFDD+P LFKKI G F+ P Y++ L++ MLQV
Sbjct 194 GPEVDIWSGVIYALLCGTLFPFDDDHVPTLFFKICDGIFYTPQYLNPSVISLLKHMQLV 253

Query 242 HPVQRITTIPEIRQDPWFLKMLPKYLQPPAEWVGT 276
P++R +I +IR+ WF ++LPKYL P + T
Sbjct 254 DPMKRASIKDIREHEWFKQDLPKYLFPEDPSYSST 288

```

Figura 2B: Comparação entre a subunidade 'c2' e sua ortóloga em *Homo sapiens*

4.4 Análise dos domínios presentes na sequência predita de aminoácidos das duas subunidades catalíticas da PKA de *P. brasiliensis*

Observaram-se domínios como: domínio para ligação de ATP e substrato, além do sítio ativo (Figura 3A). Em geral, o domínio da proteína quinase é estruturalmente conservado, contendo a função catalítica das proteínas quinases, as quais são um grupo de enzimas capazes de fosforilar proteínas. Esta função as torna capazes de regular vários processos celulares como a transcrição, progressão do ciclo celular, rearranjo do citoesqueleto, apoptose e diferenciação. Estas enzimas são classificadas em duas classes, de acordo com o substrato ao qual se ligam: serina/treonina-específica e tirosina-específica.

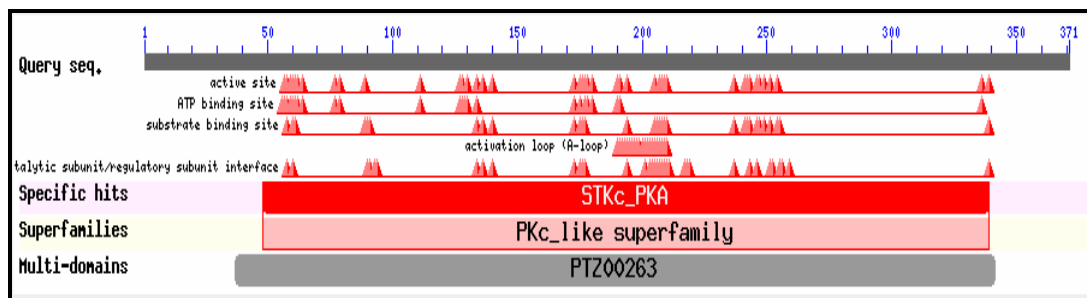


Figura 3A: Análise de domínios presentes na sequência de aminoácidos que codificam a subunidade 'c1'

A subunidade 'c2' apresenta ainda um sítio para ligação de ubiquitina (Figura 3B) durante o processo de ubiquitinação, no qual a proteína é marcada para posterior degradação nos proteassomos.

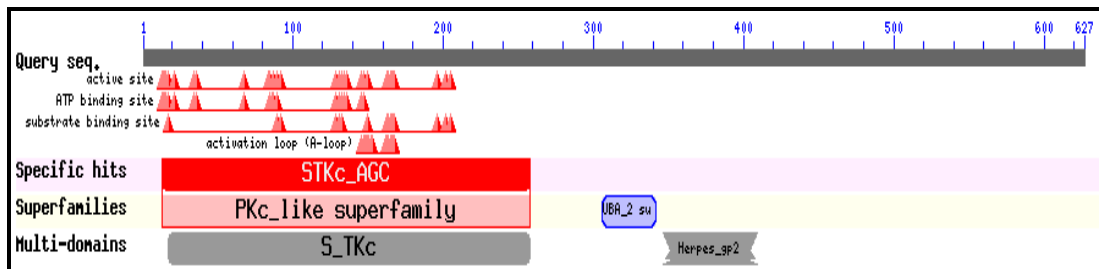


Figura 3B: Análise de domínios presentes na seqüência de aminoácidos que codificam a subunidade 'c2'

4.5 Comparação das subunidades catalíticas da PKA de diversos fungos patogênicos e não patogênicos

A análise feita a partir da ferramenta *clustal* (disponível em <http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2/index.html>) mostrou que várias seqüências podem ser alinhadas e comparadas a fim de analisar a semelhança entre outros organismos. Comparou-se, então, a subunidade catalítica 'c1' (Figura 4A) e 'c2' (Figura 4B) da cAMP/PKA com suas ortólogas encontradas em *A. fumigatus*, *C. neoformans*, *S. cerevisiae* e *C. immitis*.

```

PAAG_00108.1 -----
tr|Q4XOV1|Q4XOV1_ASPFU -----MPTLGGLLKKRRT-----KD 15
sp|P06244|KAPA_YEAST -----MSTEEQN-----GG 9
tr|Q8JOI6|Q8JOI6_CRYNV MDPPHASSIPSSSSSMPTPGSASTSANKPKKFKLDPMSMLLPHERPGYRG 50
sp|Q1EBK0|SSN3_COCIM -----MHSFRGLLHDSVSASSVSRQG-----HG 23

PAAG_00108.1 -----MHSQHSQQQQQQQ----- 14
tr|Q4XOV1|Q4XOV1_ASPFU SHTLSKELESSSSPAAAQTQTSPNSADHDHYYQHYDQTHHHQHSASSNPS 65
sp|P06244|KAPA_YEAST GQKSLDDRQGEESQKGETSERETTATESGMESKSVEKEGGETQ----- 52
tr|Q8JOI6|Q8JOI6_CRYNV SPAACRSMPPIHNQFQLQPQPGSPAYFAMLQSQVQQDSATQIRIG----- 95
sp|Q1EBK0|SSN3_COCIM DPLGFPGLEPCSEPECFSSRPPPRKFITPLQFAIRIQSRQY----- 66

PAAG_00108.1 -----
tr|Q4XOV1|Q4XOV1_ASPFU MNSATPSAAQPHRSSNDNPNRSSGTDQKSEGTASMQFAVTQPHPSTHHN 115
sp|P06244|KAPA_YEAST -----
tr|Q8JOI6|Q8JOI6_CRYNV -----IPTRTAASMGEQGGKRGESSGSIPTQAPVGSQHPA 131
sp|Q1EBK0|SSN3_COCIM -----

```

Figura 4A: Alinhamento da seqüência de aminoácidos que codificam a subunidade 'c1' com suas ortólogas em outros fungos

O mesmo foi feito para a subunidade ‘c2’: sua seqüência predita de aminoácidos foi alinhada a outras seqüências de aminoácidos, sendo estas de outros fungos (Figura 6B).

```

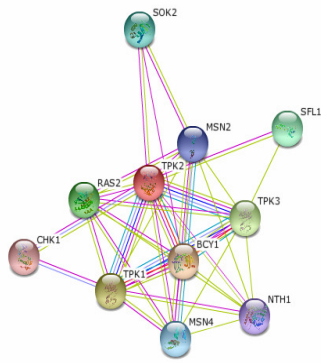
tr|Q8NIK9|Q8NIK9_CRYNE      MDPTRASSTRSSSSSMPTSSSSASASANKLKKFKLDP-MSMLLPHERPGYR 49
tr|A6ZW51|A6ZW51_YEAS7     -----MEFVAERAQP-VGQTIQQQNVNTY 23
tr|BOY409|BOY409_ASPFC     -----MATGKAEPSTHSEIPSSSPSR 22
PAAG_03386.1                ----MQRLDQYTSVKILGEGSFGKVKLAVHQASGRQVALKIIPRRKLLSR 46
sp|Q1EBD3|BUD32_COCIM      -----MTEEFPPPLPPPFTSNKTPPVLLAQ 26
.
tr|Q8NIK9|Q8NIK9_CRYNE      GSPAAGRSMPPLHPQFQLQSPGSPAYFAMLSQQVQDSSGTQRIGIQTR 99
tr|A6ZW51|A6ZW51_YEAS7     G-----QGVLQPHHDLQ-----QRQQQQ-----42
tr|BOY409|BOY409_ASPFC     G-----VDTPLEDVQKR-----EKQMVAS-----41
PAAG_03386.1                D-----MVGRVDREIQYLQLLRHPHIKLYTVIATKVDIVMVLEYAE 88
sp|Q1EBD3|BUD32_COCIM      G-----AEARLYKTDFLN-----39
.
tr|Q8NIK9|Q8NIK9_CRYNE      TTASVGEQGGKRGEGSGSQIPTQVPVGSQHPAQGVPLSPPASMASTPPSG 149
tr|A6ZW51|A6ZW51_YEAS7     -----QRQHQLLTSQLPQK-----SLVSK----62
tr|BOY409|BOY409_ASPFC     -----FRPPHQRSVNPFFVIKD-----RLEERQLG-65
PAAG_03386.1                RELFDYLVKRGRCNDEEARKFFQIICAVEYCHR-----HKIVHRDLK-131
sp|Q1EBD3|BUD32_COCIM      -----PSFPAALKFRPSKPYR-----HPILDRRLT-64
.
tr|Q8NIK9|Q8NIK9_CRYNE      SWEDSASQWSSMEGVVEGTPAPGQRSQPSRHYAPRMTQNTMRLEDWEIVE 199
tr|A6ZW51|A6ZW51_YEAS7     -----GKYTLHDFQIMR 74
tr|BOY409|BOY409_ASPFC     -----ISTRTLCVNDFTLIK 80
PAAG_03386.1                -----PENLLIDKDKNVKIADFGLSN 152
sp|Q1EBD3|BUD32_COCIM      -----RQRVLQEARCLVK 77
.

```

Figura 4B: da seqüência de aminoácidos que codificam a subunidade ‘c2’ com suas ortólogas em outros fungos

4.6- Análise das interações da PKA de *S. cerevisiae*

Verificamos também as interações descritas para proteína TPK2 de *Saccharomyces cerevisiae*. Esta proteína corresponde à subunidade catalítica da PKA tipo 2. De acordo com o banco de dados de interações entre proteínas STRING (Jensen *et al.*, 2009), a proteína interage principalmente com outras proteínas quinases e com fatores de transcrição. As interações indicam que a PKA de *S. cerevisiae* está relacionada com a regulação de diversos eventos relacionados ao crescimento celular, desenvolvimento, resposta ao estresse e regulação do ciclo celular (figura 5).



Your Input:

- TPK2 cAMP-dependent protein kinase type 2 (EC 2.7.11.11) (PKA 2) (380 aa) (*Saccharomyces cerevisiae*)

Predicted Functional Partners:

	Neighborhood	Gene Fusion	Cooccurrence	Coexpression	Experiments	Databases	Textmining	[Homology]	Score
● BCY1 cAMP-dependent protein kinase regulatory subunit (PKA regulatory subunit); Together with ZDS1, [...]				●	●	●	●	●	0.999
● TPK1 cAMP-dependent protein kinase type 1 (EC 2.7.11.11) (PKA 1) (CDC25- suppressing protein kinase) [...]			●	●	●	●	●	●	0.999
● TPK3 cAMP-dependent protein kinase type 3 (EC 2.7.11.11) (PKA 3) (398 aa)				●	●	●	●	●	0.999
● RAS2 Ras-like protein 2 precursor; The <i>S.cerevisiae</i> Ras proteins modulate the activity of the adenyly [...]				●	●	●	●	●	0.999
● SFL1 Flocculation suppression protein (Protein SFL1); Involved in cell surface assembly and regulati [...]				●	●	●	●	●	0.995
● SOK2 Protein SOK2; Plays a general regulatory role in the cyclic AMP- dependent protein kinase-stimu [...]				●	●	●	●	●	0.987
● MSN4 Zinc finger protein MSN4 (Multicopy suppressor of SNF1 protein 4); Positive transcriptional fac [...]				●	●	●	●	●	0.982
● MSN2 Zinc finger protein MSN2 (Multicopy suppressor of SNF1 protein 2); Positive transcriptional fac [...]				●	●	●	●	●	0.980
● NTH1 Neutral trehalase (EC 3.2.1.28) (Alpha,alpha-trehalase) (Alpha,alpha- trehalose glucohydrolase) (751 aa)				●	●	●	●	●	0.967
● CHK1 Serine/threonine-protein kinase CHK1 (EC 2.7.11.1) (Checkpoint kinase 1); Involved in cell cycl [...]				●	●	●	●	●	0.961

Figura 5: Interações descritas para proteína TPK2 de *S. cerevisiae* de acordo com o banco de dados de interações entre proteínas STRING (Jensen *et al.*, 2009).

5. Considerações finais

CONCLUSÕES

As duas subunidades catalíticas apresentam sequência de aminoácidos bastante conservadas, apresentando alta identidade/similaridade com PKA de outros fungos.

Os 2 peptídeos apresentam domínios STKC_AGC (serina treonina quinase) e PKc (domínio catalítico de proteína quinase), caracterizados por regiões ricas em glicina próximos à resíduos de lisina na extremidade N-terminal que parecem estar envolvidos na ligação ao ATP. Na região central do domínio catalítico existe um resíduo de ácido aspártico importante para a atividade catalítica da enzima. Adicionalmente, a Pb01PKAc2 apresenta um domínio UBA2 (ubiquitin associated domain). Este domínio também é encontrado na extremidade C-terminal da família MARK de proteínas quinases. Nestas proteínas, o domínio apresenta fraca afinidade pela ubiquitina e capacidade de ligação ao domínio de quinase (Murphy *et al.*, 2007).

Analizamos também as interações descritas para a subunidade catalítica da PKA tipo 2 de *Saccharomyces cerevisiae*. A proteína interage principalmente com outras proteínas quinases e com fatores de transcrição. As interações indicam que a PKA de *S. cerevisiae* está relacionada com a regulação de diversos eventos relacionados ao crescimento celular, desenvolvimento, resposta ao estresse e regulação do ciclo celular.

As 2 subunidades catalíticas da PKAc2 de *P. brasiliensis* foram amplificadas por PCR e clonadas em vetor de expressão para estudos de interação com outras proteínas do fungo, visando a identificação de alvos desta proteína quinase.

6. Referências bibliográficas

Bastos, K.P., Bailão, A.M., Borges, C.L., Faria, F.P., Felipe, M.S., Silva, M. G, Martins W.S., Fiúza, R.B., Pereira, M. e Soares, C.M.A. (2007). The transcriptome analysis of early morphogenesis in *Paracoccidioides brasiliensis* mycelium reveals novel and induced genes potentially associated to the dimorphic process. *BMC Microbiol.* 7:29.

Chen D, Janganan TK, Chen G, Marques ER, Kress MR, Goldman GH, Walmsley AR, Borges-Walmsley MI (2007). The cAMP pathway is important for controlling the morphological switch to the pathogenic yeast form of *Paracoccidioides brasiliensis*. *MolMicrobiol.* Aug;65(3):761-79.

Felipe, M.S., Andrade, R.V., Arraes, F.B., Nicola, A.M., Maranhão, A.Q., Torres, F.A., Silva-Pereira, I., Poças-Fonseca, M.J., Campos, E.G., Moraes, L.M., Andrade, P.A., Tavares, A.H., Silva, S.S., Kyaw, C.M., Souza, D.P., Pereira, M., Jesúino, R.S., Andrade, E.V., Parente, J.A., Oliveira, G.S., Barbosa, M.S., Martins, N.F., Fachin, A.L., Cardoso, R.S., Passos, G.A., Almeida, N.F., Walter, M.E., Soares, C.M A., Carvalho, M.J., Brígido, M.M.; PbGenome Network (2005). Transcriptional profiles of the human pathogenic fungus *Paracoccidioides brasiliensis* in mycelium and yeast cells. *J. Biol. Chem.* 280, 24706-24714.

Fernandes L, Araújo MA, Amaral A, Reis VC, Martins NF, Felipe MS (2005). Cell signaling pathways in *Paracoccidioides brasiliensis*--inferred from comparisons with other fungi. *Genet Mol Res.* Jun 30;4(2):216-31