



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Identificação de sequências promotoras e terminadoras preditas no genoma de <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> e sua influência na transcrição gênica
Autor	GABRIELA MERKER BREYER
Orientador	IRENE SILVEIRA SCHRANK

Identificação de sequências promotoras e terminadoras preditas no genoma de *Mycoplasma hyopneumoniae* e sua influência na transcrição gênica

Gabriela Merker Breyer
Prof.^a Dr.^a Irene Silveira Schrank
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Mycoplasma hyopneumoniae é uma bactéria cujas principais características são ausência de parede celular e genoma de tamanho diminuto. Nosso grupo tem como principal objetivo a compreensão da regulação gênica de *M. hyopneumoniae*, tendo sido realizados diversos estudos abordando este tema, que determinaram a organização genômica deste organismo em unidades transcricionais (UTs), bem como predisseram sequências promotoras e terminadoras da transcrição. Este trabalho tem como objetivo a integração destes resultados e avaliação da influência destes elementos na transcrição gênica de *M. hyopneumoniae* em diferentes condições de cultivo. Portanto, foram selecionados como alvo genes que apresentaram maior representatividade no transcrito na condição padrão de cultivo, ou que são positiva ou negativamente regulados em condições de estresse térmico ou oxidativo. Em alguns casos, todos os genes que compõem uma determinada UT foram analisados, em outros, a UT foi analisada parcialmente. Com o objetivo de confirmar a indução das condições de estresse foram selecionados genes alvo específicos com base na literatura existente. Primeiramente, foram realizadas análises *in silico* para o refinamento dos dados sobre a localização de promotores e terminadores, e para a classificação das UTs de acordo com a presença destes elementos. Os cultivos de *M. hyopneumoniae* 7448 foram realizados em meio Friis em três condições: i) padrão: cultivado a 37 °C por 24 h; ii) estresse térmico: cultivo igual ao padrão, seguido de incubação a 30 °C por 2 h, e a 42 °C por 30 min; e, iii) estresse oxidativo: cultivo igual ao padrão, seguido da adição de 1 % de peróxido de hidrogênio e incubação a 37 °C por 15 min. Os cultivos foram realizados em replicatas biológicas e o RNA de *M. hyopneumoniae* foi isolado. A partir do RNA extraído foram sintetizados os cDNAs através de reações de Transcrição Reversa (RT), para cada condição. Os níveis de transcritos foram verificados através de PCR quantitativo (qPCR), e o cálculo de expressão relativa foi realizado pelo método $2^{-\Delta CT}$ corrigido pelo valor de eficiência dos *primers*. O gene *lon* foi utilizado como normalizador para os genes confirmatórios das condições de cultivo, enquanto que o gene MHP7448_333 foi o normalizador dos genes alvo. Os resultados de expressão relativa foram analisados estatisticamente pelo teste *One-way ANOVA by Tukey's multi comparision* ($P < 0,05$), e a comparação de expressão dos genes de uma mesma unidade foi analisada estatisticamente pelo teste de *Tukey* ($P < 0,05$) e teste de *Friedman* ($P < 0,05$). Na análise *in silico* foi possível determinar 13 possíveis tipos de organização das UTs de *M. hyopneumoniae*, considerando a presença ou ausência de sequências promotoras e terminadoras preditas no genoma. Através da metodologia de qRT-PCR foi possível confirmar a indução das condições de estresse e determinar o perfil de expressão dos genes alvo nas três condições de cultivo testadas. Estas informações juntamente as predições de elementos reguladores permitem inferir a influência de promotores e terminadores na transcrição dos genes alvo. Também se deve levar em consideração a existência de outros elementos reguladores, como sequências repetitivas que podem estar atuando e influenciando na transcrição. A regulação da expressão gênica é um processo complexo que pode ocorrer de diversas maneiras, portanto os resultados obtidos neste trabalho servem para agregar conhecimento ao tema de regulação da transcrição em *M. hyopneumoniae*.