



UNIVERSIDADE
E COMUNIDADE
EM CONEXÃO



XIII FINOVA

6 a 10 de novembro

Evento	Salão UFRGS 2023: FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DA UFRGS - FINOVA
Ano	2023
Local	Campus Centro - UFRGS
Título	Mecanismos moleculares envolvidos na expressão gênica de fatores de virulência de <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>
Autores	FELIPE VIEIRA DOS SANTOS LOPES JÉSSICA ANDRADE PAES VIEIRA PRISCILA SOUZA DOS SANTOS BRYAN AUGUSTO DA ROSA TAVARES
Orientador	HENRIQUE BUNSELMeyer FERREIRA

RESUMO

TÍTULO DO PROJETO: Mecanismos moleculares envolvidos na expressão gênica de fatores de virulência de *Mycoplasma hyopneumoniae* (nº UFRGS 38113)

Aluno: Felipe Vieira dos Santos Lopes

Orientador: Prof. Dr. Henrique Bunselmeyer Ferreira

RESUMO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS PELO BOLSISTA

Seleção de genes codificadores de fatores de virulência de *M. hyopneumoniae* para os ensaios funcionais

Para a seleção de genes codificadores de fatores de virulência foi feita extração total do RNA de *M. hyopneumoniae*, e posteriormente a preparação das bibliotecas de cDNA e sequenciamento, o qual foi realizado pela empresa CD Genomics (EUA). A partir de dados de proteômica prévios, que identificaram fatores de virulência abundantes na superfícies de *M. hyopneumoniae*, e do sequenciamento realizado neste trabalho foram selecionados 10 genes de *M. hyopneumoniae* codificadores de fatores de virulência conhecidos. Essa seleção engloba 2 adesinas, 2 proteases, 2 enzimas pró- e antioxidantes, 2 lipoproteínas e 2 transportadores de membrana.

Clonagens moleculares para construção de um vetor plasmidial recombinante contendo as sequências codificadoras necessárias para construção de um circuito sintético de expressão regulada de dCas9 para os ensaios de CRISPRi (construção pCRISPRi)

Construções plasmidiais necessárias para os ensaios de perda de função realizados com CRISPRi foram feitas utilizando a estrutura do vetor pUC57. Com as sequências codificadoras do repressor TetR e de dCas9 foi feita a construção do vetor pUC57-CRISPRi. A sequência de DNA CamR foi substituída por dCas9 e tetR para criar o vetor pUC57-CRISPRi, regulado pelos promotores pXyl/tetO2 e p97, respectivamente. Em consequência do tamanho do inserto dCas9-tetR a construção do vetor pCRISPRi foi realizado sob encomenda pela empresa Fastbio-GenScript (EUA), utilizando os sítios de restrição XbaI e NsiI.

Resultados obtidos

1. Escolha da posição das sequências-alvo para os ensaios de interferência por CRISPRi e dCas9;
2. Construção plasmidial recombinante do vetor pCRISPRi para manipulação genética de *M. hyopneumoniae*.