“CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE LINHAGEM MUTANTE DE *Salmonella enterica* TYPHIMURIUM PARA GENE CODIFICADOR DE PROTEÍNA LIGANTE DE DNA”

João Pedro R. Prado*, Tamires Fernanda V. B. Cordeiro, Marcelo Brocchi

Resumo

O projeto visa avaliar a função biológica do gene *stpA* em *S. enterica* Typhimurium ATCC 14028 através da deleção desse gene, obtendo-se, possivelmente, uma linhagem vacinal. O primeiro passo consistiu em obter a linhagem mutante através do sistema λ Red (Datsenko e Wanner, 2000) bem como sua linhagem complementada para o gene. Testes fenotípicos como curva de crescimento, sobrevivência a pH baixo, estresse osmótico e invasão em modelo murino estão sendo realizados com as linhagens selvagem, mutante e complementada a fim de se verificar alguma alteração fenotípica causada pela ausência do *stpA*. Está sendo também realizada uma análise em qRT-PCR para o gene H-NS, parálogo ao *stpA* a fim de verificar uma possível alteração em sua expressão.

Palavras-chave:

Salmonella enterica, *stpA*, proteínas associadas ao nucleóide

Introdução

Cepas de *S. enterica* são as principais responsáveis por casos de gastroenterite aguda. O impacto das infecções por *S. enterica* sobre a saúde pública mundial não tem sido devidamente estimado, mas sabe-se que gastroenterites são importantes causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. São estimados 93,8 milhões de casos por ano de gastroenterite em humanos, no mundo todo, provocados por espécies de *S. enterica*, com 155.000 mortes.

Uma série de mecanismos incluindo a ligação de proteínas e o enovelamento do DNA permitem que o cromossomo bacteriano seja compactado, adequando-se ao tamanho limitado da célula bacteriana. O DNA cromossômico é ainda mais condensado por meio de pequenas proteínas associadas ao nucleóide (NAPs – *Nucleoid-Associated Proteins*) que influenciam a topologia do DNA. Devido à sua capacidade de ligação ao DNA, as NAPs também podem desempenhar um papel importante na regulação gênica global.

Apesar de existirem dados de transcriptoma para mutante *stpA* de *S. enterica* Typhimurium (Lucchini et al., 2009), avaliações adicionais são necessárias para uma melhor compreensão do papel desta Nap.

Resultados e Discussão

Parte dos resultados encontram-se na Figura 1 e nas Tabelas 1 e 2.

Figura 1. Curva de crescimento em meio de cultura LB das linhagens ATCC 14028 WT e ATCC 14028 Δ *stpA*::cat baseada na densidade óptica das culturas durante 10 horas de experimento. Curva representativa de dois experimentos.

Tabela 1. Primeiro experimento para determinação da DL50 de linhagens de *S. enterica* ATCC 14028 WT e ATCC 14028 Δ *stpA*::cat inoculadas por via oral em camundongos BALB/c/AnUnib.

Dose	Número de camundongos vivos após 30 dias	DL50
10 ¹ UFC (selvagem)	4	1,0 x 10 ⁴ UFC
10 ² UFC (selvagem)	3	
10 ³ UFC (selvagem)	3	
10 ⁴ UFC (selvagem)	3	
10 ⁵ UFC (selvagem)	2	
10 ² UFC (mutante)	5	6,82 x 10 ⁶ UFC
10 ³ UFC (mutante)	5	
10 ⁴ UFC (mutante)	5	
10 ⁵ UFC (mutante)	5	
10 ⁶ UFC (mutante)	2	

Nota-se uma atenuação de mais de 2 logs na linhagem mutante em relação à selvagem. No entanto, praticamente não há diferença quanto ao crescimento das duas linhagens.

Conclusão

Ainda há muito a se descobrir sobre o papel do *stpA*, mas os resultados obtidos sugerem que o gene apresenta influência sobre a virulência da linhagem estudada de *S. enterica*.

Agradecimentos

Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica e Tecnológica - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (PIBIC/CNPq)

DATSENKO, K. A.; WANNER, B. L. One-step inactivation of chromosomal genes in *Escherichia coli* K-12 using PCR products. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 97, n. 12, p. 6640-5, 2000.

LUCCHINI, S. et al. The H-NS-like protein StpA represses the RpoS (sigma 38) regulon during exponential growth of *Salmonella* Typhimurium. *Molecular Microbiology*, v. 74, n. 5, p. 1169-86, 2009.