



Evento	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2015
Local	Porto Alegre - RS
Título	Análise transcricional em diferentes condições de cultivo de small RNAs preditos em Mycoplasma hyopneumoniae
Autor	GABRIELA MERKER BREYER
Orientador	IRENE SILVEIRA SCHRANK

Análise transcricional em diferentes condições de cultivo de *small RNAs* preditos em
Mycoplasma hyopneumoniae

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

Small RNAs (sRNAs) são uma classe de RNAs não-codificantes relacionados à regulação da expressão gênica. *Mycoplasma hyopneumoniae* é uma espécie bacteriana que possui genoma diminuto, e cuja regulação transcricional ainda é pouco compreendida. Uma análise *in silico* realizada anteriormente sugeriu a presença de sRNAs em seu genoma. Paralelamente, está sendo desenvolvida outra análise para identificação dos genes-alvo desses sRNAs, para melhor compreender sua atuação. Portanto, o objetivo deste trabalho é analisar a presença de transcritos dos sRNAs preditos mapeando sua posição no genoma de *M. hyopneumoniae*. A partir de estudos *in silico*, 47 sRNAs foram preditos em *M. hyopneumoniae*. Como este organismo possui um genoma rico em conteúdo A+T e com diversas repetições, foi possível construir *primers* específicos para apenas 18 sRNAs, que foram utilizados como alvos na análise experimental. Os *primers* na posição 3' de cada sequência em estudo foram construídos com adição de uma cauda em grampo, para manter a estabilidade do fragmento. Deste modo, para cada sRNA predito foram construídos quatro pares de *primers*, sendo dois *primers* para a posição 5' e dois *primers* na posição 3' acrescidos da cauda, abordando ambas fitas de DNA. Tal metodologia permite a amplificação de toda a sequência predita e a determinação da fita codificadora de cada sRNA. A extração de RNA de *M. hyopneumoniae* foi realizada em três condições distintas de cultivo: i) padrão: cultivado a 37°C, por 24h; ii) estresse térmico: cultivado a 37°C, por 24h e incubado a 30°C por 2h30, seguido de 30min a 42°C; e, iii) estresse oxidativo: cultivado a 37°C, por 24h e tratado com 1% de peróxido de hidrogênio. Para cada cultivo, o DNA complementar (cDNA) foi sintetizado a partir do RNA extraído, através de reações de transcrição reversa (RT), com o emprego de *primers* 3' acrescidos da cauda específicos para cada sRNA. Os cDNAs foram então amplificados através de reações em cadeia da polimerase (PCRs), empregando um *primer* 5' específico e um *primer* 3' universal, o qual anela especificamente na região da cauda. Os produtos amplificados foram analisados em géis de agarose 2%. As reações foram realizadas em triplicatas. Através da metodologia de RT-PCR foi possível confirmar experimentalmente a presença de transcritos para todos os 18 sRNAs testados, bem como determinar a fita codificadora em 15 sRNAs. Foi demonstrado que um dos sRNA apresentou expressão condição-específica, sendo transcrito apenas na condição de estresse oxidativo. Outro sRNA apresentou transcrito na condição padrão e na condição de estresse oxidativo, porém não após estresse térmico. Com base nos resultados obtidos, a transcrição dos sRNAs preditos foi confirmada, sendo possível observar que há expressão condição-específica em alguns deles, sugerindo que seu transcrito pode estar envolvido na regulação da expressão gênica nessas condições. Os ensaios na condição de estresse térmico estão em andamento, restando ainda a análise de 12 sRNAs. Após finalizar os ensaios, os resultados gerados serão associados às informações obtidas na predição de possíveis genes-alvo dos sRNAs, objetivando traçar hipóteses do seu envolvimento na regulação transcricional em *M. hyopneumoniae*.