



XXV ENCONTRO DE JOVENS PESQUISADORES
VII MOSTRA ACADÊMICA DE INOVAÇÃO E TECNOLOGIA

De 17 a 19 de outubro de 2017
Campus-Sede da UCS • Caxias do Sul



FATORES GENÉTICOS ENVOLVIDOS NA PRODUÇÃO DE PIOMELANINA POR AEROMONAS HYDROPHILA IBAER109

Gabriel Victoria Martins (PROBIC-FAPERGS), Ana Paula Longaray Delamare, Sergio Echeverrigaray Laguna (Orientador(a))

Piomelanina é uma alomelanina derivada do catabolismo da tirosina ou fenilalanina, via p-hidroxifenilpiruvato (HPP) formando ácido homogentésico (HGA), o qual sofre posterior auto-oxidação e polimerização. Em *Aeromonas* produtoras de melanina, a inativação do gene homogentisato-1, 2-dioxigenase (*hmgA*) evidencia que a produção está associada a via do homogentisato. Em *P. aeruginosa*, produtora de pigmento, o gene “ABC transporter” foi responsável por retirar do citosol o HGA. O presente estudo teve como objetivo identificar a presença de *hmgA* e sua possível interrupção, além da identificação do gene “ABC transporter” na cepa de *A. hydrophila* IBAer 109. Foi realizada análise de identidade na sequência correspondente ao gene *hmgA*, tendo como base *A. hydrophila* ATCC 7966 (não pigmentada), *A. media* WT e *A. salmonicida* 34 melT (produtoras de pigmento). Análise similar identificou identidade do gene transportador *Aha3929* nestas cepas. Foram construídos três conjuntos de primers para *hmgA*, buscando regiões conservadas em cepas de *Aeromonas*. Foram desenhados primers para avaliação de expressão gênica (*Aha3929*, *GyrB* e *RpoC*). Estes foram empregados para amplificar os genes nas cepas IBAer109 e ATCC7966. Os resultados demonstram que, as sequências genicas das três cepas apresentam identidade superior à 98%, e as proteínas correspondentes são idênticas. O gene *HmgA* encontra-se num operon formado por quatro genes, na ordem: *HppD*, *hmgA*, *aha2661* e *MaiA*. As enzimas codificadas por estes genes são responsáveis pelos passos da via do HGA, envolvido no catabolismo da tirosina. A comparação entre as sequências das cepas, não produtoras e produtoras de pigmento, mostra disrupção gênica de *hmgA* por transposon, tratando-se de dois eventos distintos. Essa disfunção leva ao acúmulo de HGA, o qual por sua vez é secretado através de um transportador codificado pelo gene *Aha3929*, situado em um operon formado por três genes (*Aha3929*, *Aha3930* e *Aha3931*). O primeiro par de primer para *hmgA* em ATCC7966 resultou num amplicon de 189pb. Por outro lado, em IBAer109 apresentou 246pb indicando inserção de 57pb nesta região. O amplificado da região terminal de ATCC7966, resultou no amplificado esperado de 220pb. Entretanto, na cepa IBAer109 apresentou 260pb, pressupondo uma inserção de 40pb. Esta diferença também pode ser observada nos primers intermediários, com amplicon de 537pb em ATCC7966 e 600pb em IBAer109. O amplificado total do gene *hmgA* confirma um aumento de 150pb na cepa IBAer109. Desta forma, concluímos que existe uma inserção de 100 pares de bases no gene *hmgA* causando sua interrupção, acúmulo de HGA, e sua secreção produzindo piomelanina; a inserção existente em IBAer109 não é compatível com um transposon; e o gene *Aha3929* está presente nesta cepa.

Palavras-chave: piomelanina, genes, aeromonas

Apoio: UCS, FAPERGS