BONIFACIO-PEREIRA, G. K. **Mapping transcriptional regulation of biofilm-related genes promoters in *Pseudomonas aeruginosa.*** 2022 115p, Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Pseudomonas aeruginosa é uma bactéria gram-negativa predominante no solo, vegetação e água. Por ser um patógeno oportunista que acomete pessoas imunossuprimidas, *P. aeruginosa* tem grande importância clínica. É bastante resistente a antimicrobianos e possui diversos fatores de virulência que contribuem para sua patogenicidade. Um importante fator de virulência bacteriana é a formação de biofilmes que são agregados de microrganismos incorporados a uma matriz extracelular que protege as bactérias de ambientes hostis. A formação de biofilme é um processo precisamente regulado a nível transcricional. A maior parte dessa regulação é realizada diretamente por fatores de transcrição que modulam a atividade de promotores envolvidos na expressão de fatores de virulência. Nesse sentido, objetivamos caracterizar o comportamento de diferentes promotores de genes envolvidos na regulação de biofilme de *P. aeruginosa* sob diferentes condições e buscar possíveis novas proteínas de ligação ao DNA associadas às suas regiões promotoras. Para isso, as regiões *upstream* dos genes *gacA, gacS, ladS, retS, rsmA, rsmZ* e *PA1611* foram clonadas separadamente em um vetor *repórter* miniTn7 e inseridas no cromossomo de PAO1. Em seguida, avaliamos o crescimento e a atividade da região upstream pela expressão de *lux* em diferentes fontes de carbono e privação de ferro. Não observamos diferenças na atividade das regiões upstream sob crescimento com glicose e glicerol. No entanto, na presença de citrato, a região upstream de *retS* apresentou menor atividade, enquanto a atividade da região upstream de *rsmA* foi induzida. No ensaio de cromatografia de afinidade ao DNA para as regiões upstream de *retS* e *rsmA* em meio LB, encontramos pqsC e pqsH ligando-se à região upstream de *retS* e o regulador negativo mvaT ligando-se à região upstream de *rsmA*. Em nossos achados, mvaT tem influência negativa na regulação de *rsmA*, uma vez que sua inativação leva a uma maior atividade da região upstream de *rsmA*. pqsC e pqsH estão envolvidos no *quórum sensing* e na formação de biofilme. Em nosso estudo, hipotetizamos que ambos

têm um papel na ativação da região upstream de *retS* em meio LB e em MOPS-glicose, uma vez que sua mutação resultou em uma maior atividade dessa da região. Por outro lado, o oposto parece acontecer quando a fonte de carbono é acetato e succinato. Também avaliamos por Western Blot a expressão de *retS* ao longo do tempo quando co-cultivado com *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* em meio artificial de escarro e notamos que não houve alteração na expressão deste gene quando comparado ao cultivo isolado de PAO1.