



Investigação fisiológica de bactérias de ambientes inexplorados utilizando microscopia de células-únicas

Victoria Vieira Celaro, Audrey Menegaz Proença, Renata, Medina da Silva
(orientador)

*Escola de Ciências da Saúde e da Vida, PUCRS
Instituto do Petróleo e dos Recursos Naturais,*

Tipo de bolsa: BPA/PUCRS

Resumo

O projeto tem como objetivo a implementação de técnicas de microscopia em células únicas para realizar análises fisiológicas e fenotípicas de microrganismos. Visando o estudo de bactérias de ambientes inexplorados, iniciamos tal implementação utilizando *Escherichia coli* como organismo-modelo. Realizamos testes preliminares de microscopia com amostras inoculadas em lâminas de agarose, permitindo o acompanhamento de divisões celulares nos estágios iniciais de formação de colônia. Os cultivos em lâminas de agarose foram realizados devidamente como o esperado, possibilitando que realizássemos testes de aparelhos de microscopia em diferentes laboratórios do campus, buscando a melhor ferramenta para análise. Adiante, pretendemos utilizar o dispositivo de microfluidos “*mother machine*”, produzido no Chao Lab (University of California, San Diego), para cultivos contínuos. Esse dispositivo contém uma série de poços de crescimento, permitindo o acompanhamento de bactérias através de microscopia em lapso de tempo. O intervalo de captura de imagens será definido de acordo com o intervalo de crescimento de cada isolado ambiental. A análise de imagens será feita com os softwares *ImageJ* e *RStudio*. Para a realização de testes dos protocolos computacionais, utilizamos vídeos de microscopia produzidos anteriormente no Chao Lab. Realizamos medições que confirmaram o padrão de crescimento aditivo que se manifesta em *Escherichia coli* durante o crescimento exponencial. Os resultados obtidos foram comparados com uma análise inédita de *Escherichia coli* submetidas à evolução experimental, proveniente do experimento contínuo iniciado pelo Lenski Lab (Michigan State University) há 30 anos. Continuaremos os experimentos de microscopia futuramente, objetivando a expansão desses testes satisfatórios à avaliação de organismos ambientais de sedimento marinho. O aprendizado adquirido será enriquecedor e necessário, pois o estudo irá utilizar isolados ambientais, que não são usualmente utilizados, proporcionando avanços entre duas áreas da Biologia dificilmente interconectadas, além do projeto utilizar métodos não usuais na Universidade. A maior dificuldade encontrada até o momento foi em relação à microscopia. Foi muito difícil localizar um microscópio invertido que estivesse à disposição para a utilização, e

outro impasse encontrado foi na captura de imagens, devido a problemas com a resolução e o balanceamento de cores.

Palavras-chave: Isolados microbianos; Microfluídos; Cultura exponencial.

