

PROIECT IDEI 154/2011
REZUMATUL RAPORTULUI DE FAZA UNICA
ANUL 2014

OBIECTIVE:

- **Evidențierea modificărilor profilelor de expresie genică la *D.melanogaster* tratate cu *P.aeruginosa* versus organisme netratate**
- **Analiza bioinformatică a funcțiilor genelor a căror expresie a fost reprimată/stimulată și identificarea unor ortologi umani**
- **Formularea unei semnificații clinice a rezultatelor obținute**

Obiectivul acestei etape a proiectului a fost investigarea modificărilor nivelului de expresie al unor gene de la *D. melanogaster* determinate de infecții experimentale induse la masculii tineri prin ingestă (hranire) și respectiv prin ranire (*pricking*). În paralel, a fost evaluat nivelul relativ de expresie al unor gene de la *P. aeruginosa* implicate în procesele *quorum sensing* (QS). În cadrul experimentelor, au fost utilizați masculii tineri de *D. melanogaster* din linia control *Oregon*, precum și masculii tineri mutanți *gammaCop*^{14a}/*gammaCop*^{14a}.

În urma experimentului preliminar de microarray, descris anterior în cadrul proiectului, a fost selectat un grup de gene susceptibile a fi implicate în elaborarea răspunsului imun. Pentru analiza prin tehnica qRT-PCR a variației expresiei genice în infecții induse experimental la nivelul corpului întreg și la nivelul intestinului, au fost selectate patru gene, respectiv *gammaCop*, *trpl*, *CG9466* și *CG9468*. În plus, a fost analizată și modificarea nivelului de expresie al genelor referențiale *DptB* și *Dro*, a căror implicare în răspunsul imun este cunoscută. Experimentele de qRT-PCR au evidențiat următoarele aspecte:

- în condiții de infecție prin întepare, genele *DptB* și *Dro* sunt supraexprimate la nivelul întregului corp în masculii *Oregon* infectați, comparativ cu cei neinfecțiați. Aceste date sunt în concordanță cu rezultatele experimentale obținute pe larve de *D. melanogaster* de către Vodovar și colaboratorii (2005). Gena *Dro* este supraexprimată și în corpul indivizilor mutanți *gammaCop*^{14a}/*gammaCop*^{14a}, consecutiv infectării prin întepare. În schimb, *Dro* este subexprimată de

1,4 ori la nivelul intestinului mutantilor infectati prin ingesta, ceea ce sugerează faptul ca si *background*-ul genetic al acestora interfera cu reglajul fin al expresie genei *Dro* in timpul infectiei cu *P. aeruginosa*.

- gena *gammaCop* este supraexprimata semnificativ in conditii de infectare cu bacterii Gram-negative, aceasta putand fi implicata in stimularea transportului celular in conditii de hipoxie, indusa de dezvoltarea *P. aeruginosa* la nivelul plagii prin intepare (Legendre si colab., 2012). Faptul ca in masculii mutanti gena *gammaCop* este defectiva, poate influenta modul in care aceasta este recrutata si folosita de catre sistemul imunitar la nivelul intestinului, cu impact asupra expresiei altor gene cu care interactioneaza in declansarea raspunsului imun.

- pentru gena *trpl* nu a fost identificat un *pattern* consistent al variatiei expresiei genice. Luand in considerare procesele biologice in care este implicata gena *trpl* (Agam si colab., 2000; Xu si colab., 2000; Zhang si colab., 2013), este posibil ca nivelul de expresie al *trpl* sa fi fost afectat si de alti factori decat infectia experimentală (de exemplu, stimulii luminosi la care au fost supusi, inerent, masculii in timpul protocolului de infectare).

- genele *CG9466* si *CG9468* sunt semnificativ subexprimate in cazul infectiei prin ranire, atat la masculii *Oregon*, cat si la mutantii *gammaCop*^{14a}/*gammaCop*^{14a}. La nivelul intestinului, gena *CG9468* este supraexprimata in ambele categorii de masculi, in timp ce *CG9466* este supraexprimata doar in intestinul masculilor *Oregon*, ceea ce poate reprezenta un nou caz ilustrativ pentru interactiunile dintre expresia genica si *background*-ul genetic al mutantilor.

In completare, s-a demonstrat ca nivelul de expresie al genei *rhll*, una dintre genele de quorum sensing de la *P. aeruginosa*, este influentata de *background*-ul genetic in care se desfasoara infectia.

Datele obtinute in urma acestor experimente, realizate in multiple replici biologice, sustin ipoteza conform careia, intre organismul gazda *D. melanogaster* si bacteria *P. aeruginosa* are loc un schimb reciproc de informatii mediat, cel mai probabil, de moleculele QS. O rezultanta a acestei comunicari gazda-parazit consta in variatia nivelului de expresie a genelor tinta, atat in cazul genelor gazdei, cat si in cazul genei *rhll* a agentului infectios *P. aeruginosa*.

PUBLICATII REZULTATE DIN VALORIFICAREA REZULTATELOR PROIECTELOR OBTINUTE IN CADRUL ACESTEI FAZE

ARTICOLE PUBLICATE IN REVISTE INDEXATE ISI CU FACTOR DE IMPACT

1. Holban Alina-Maria, Coralia Bleotu, Mariana Carmen Chifiriuc, Eugenia Bezirtzoglou, Veronica Lazar. Role of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing (QS) molecules on the viability and cytokine profile of human mesenchymal stem cells. *Virulence* 2014, 5, 303-31. **IF 3.319**
2. Curutiu Carmen, Balotescu-Chifiriuc Mariana Carmen, Iordache Florin, Bleotu Coralia, Lazar Veronica, Popescu Radu Cristian, Grigore Raluca, Bertesteanu Gabriel. *Fluorescence analysis of apoptosis induced by Pseudomonas aeruginosa in endothelial cells*. *RJME* 2014, 55(2):313-317 **IF 0.7**
3. Chifiriuc M.C., Grumezescu A. M., Lazar V. Quorum Sensing Inhibitors from the Sea: Lessons from Marine Symbiotic Relationships. *Current Organic Chemistry*. 2014, 18, 823-839 **IF- 2.8**
4. Gheorghe Irina, Ilda Czobor, Mariana Carmen Chifiriuc, Elvira Borcan, Camelia Ghiță, Otilia Banu, Veronica Lazăr, Grigore Mihăescu, Dan Florin Mihăilescu, Zong Zhiyong. Molecular screening of carbapenemase - producing Gram negative strains in Roumanian intensive care units during one year survey. *J Med Microbiol*. 2014, 63: 1303-1310. **IF 2.297**
5. Gheorghe Irina, Mariana Carmen Chifiriuc, Ani Ioana Cotar, Veronica Lazar. Extended-spectrum Beta-lactamase Production in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* Strains: Epidemiology, Molecular Characterization and Novel Proteomics-based Diagnostic Tools. *Current Proteomics*. 2014, 11 (2): 108-115 **IF 0.44**
6. Czobor Ilda, Irina Gheorghe, Otilia Banu, Alexandra Velican, Veronica Lazăr, Grigore Mihăescu, Mariana-Carmen Chifiriuc. ESBL genes in Multi Drug Resistant Gram negative strains isolated in a one year survey from an Intensive Care Unit in Bucharest, Romania. *Roumanian Biotechnological Letters*. 2014,19(4), 9553-9560. **IF 0.363**.

LUCRARI COMUNICATE ORAL SAU CA POSTER LA CONGRESE INTERNATIONALE INDEXATE ISI

1. Gheorghe, Â. Novais, F. Grosso, C. Rodrigues, C. Chifiriuc, V. Lazăr, L. Peixe. Identification of particular clonal complexes and mobile elements associated with the dissemination of *blaOXA-23*-carrying *Acinetobacter baumannii* and *blaVIM-2*-carrying *Pseudomonas aeruginosa* in

- Romania. Poster P0994. The 24rd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Barcelona, Spain, May 2014.
2. Pires J., Â. Novais, L. Silva, J. Campos, J. Bothelho, I. Czobor, I. Gheorghe, L. Peixe. Further validation of Blue-Carba, a recently described quick and reliable method for carbapenemase detection. Poster eP327. The 24rd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Barcelona, Spania, May 2014.
 3. Holban A.M., C. Bleotu, M.C. Chifiriuc, L.M. Dițu, L. Marutescu, C. Curutiu, V. Lazar. The impact of the *Pseudomonas aeruginosa* culture fractions on mesenchymal stem cells morphophysiology. ESCMID Conferences, Barcelona, Spain, May 2014
 4. Holban Alina M., Stephan Heeb, Mariana C. Chifiriuc, Paul Williams, Veronica Lazar. Host stress hormone noradrenaline interferes with *Pseudomonas aeruginosa* social behaviors in an iron dependent manner. FEBS/EMBO Conference, Aug-Sept Paris, France, 30th August-4th Sept 2014, oral presentation - travel grant fellowship
 5. Ecovoiu, A., Ratiu, A.C., Czobor, I., Chifiriuc, M. Whole genome expression profiles of *Drosophila melanogaster* consecutive to *Pseudomonas aeruginosa* infection allow selection of new model genes implicated in host-parasite relationship. 24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Barcelona, Spain - P0130, May 2014

LUCRARI COMUNICATE CA POSTER LA MANIFESTARI STIINTIFICE NATIONALE

1. Irina Gheorghe, Ângela Novais, Filipa Grosso, Carla Rodrigues, Carmen Chifiriuc, Veronica Lazar, Luisa Peixe. Genetic characterization of *Pseudomonas aeruginosa* blaVIM-2 and *Acinetobacter baumannii* blaOXA-23 resistant to carbapenems in România Scientific Session of The Students of the Faculty of Biology. Anniversary Ed. Bucharest, 2014