

---

**TÍTULO (PORTUGUÊS E INGLÊS)**

Desenvolvimento de novas ferramentas para o estudo da formação de biofilmes em *Clostridium difficile*.

Development of new tools to study biofilm development in *Clostridium difficile*.

---

**RESUMO e CALENDARIZAÇÃO**

A formação de biofilmes é um exemplo de comportamento social em bactérias. Os biofilmes são formados por sub-populações de células diferenciadas, e representam uma forma de organização multicelular. Este tipo de organização permite às bactérias exercerem uma forma mais robusta de influência sobre o ambiente circundante, em comparação com células individualizadas. Em anos recentes, demonstrou-se que os biofilmes são um aspecto importante da persistência de determinados organismos no trato gastrointestinal humano. Algumas das bactérias que podem ser encontradas no trato gastrointestinal humano são ainda capazes de diferenciar um tipo celular altamente resistente a insultos químicos e físicos, o esporo. Nestes casos, não é claro se são os biofilmes ou os endósporos os principais responsáveis pela persistência destes organismos, já que ambos são resistentes aos antibióticos.

Este projeto terá os seguintes objectivos:

i) validação do gene repórter *gusA* para estudos de expressão génica em colónias e em células de *Clostridium difficile*.

ii) construção de fusões transcricionais do *gusA* a promotores de genes específicos para o desenvolvimento de biofilme, produção de toxina e formação de esporos. Análise da expressão das fusões *gusA* em colónia e em secções finas por esteromicroscopia de fluorescência e por microscopia confocal. Os estudos serão complementados por citometria de fluxo.

O projeto envolve técnicas de **Biologia Molecular** (construção de fusões transcricionais a genes repórteres fluorescente), **Genética** (construção de mutantes), **Microbiologia** (caracterização fenotípica de mutantes; ensaios de ligação de violeta cristal para teste de formação de biofilmes; avaliação do título de esporos resistentes ao calor), **Biologia Celular** (microscopia de fluorescência quantitativa para caracterizar padrões espaço-temporais de expressão ao nível da célula individual, na população celular; e em colónias; localização sub-celular de proteínas durante a diferenciação de biofilmes), e **Bioquímicas** (fraccionamento celular, *immunoblotting*).

Projeto a iniciar em Setembro com a duração de 10 meses.

---

**ORIENTAÇÃO**

Orientador: Mónica Serrano; Telefone: 214469524. Email: [serrano@itqb.unl.pt](mailto:serrano@itqb.unl.pt).

Co-orientador: Adriano O. Henriques; Telefone: 214469521; Email: [aoh@itqb.unl.pt](mailto:aoh@itqb.unl.pt).

---

**LOCAL DE REALIZAÇÃO**

O projeto decorrerá no Laboratório de Desenvolvimento Microbiano do ITQB-UNL, em Oeiras.

---

**REGIME PREVISTO**

Tempo integral.

---

**MÉTODO DE SELECÇÃO**

Entrevista, avaliação curricular e média final ponderada do 1º ano do mestrado.

---