

Resumo

A *Listeria monocytogenes* é um patógeno humano de origem alimentar. A ingestão de alimentos contaminados pode causar uma doença grave, principalmente em indivíduos imunocomprometidos. A listeriose é caracterizada por septicemias, meningites, meningo-encefalites e abortos. O estudo ao nível da biologia celular da infecção por *Listeria* tem proporcionado uma melhor compreensão dos mecanismos pelos quais a bactéria manipula o hospedeiro e tem revelado funções desconhecidas de determinadas proteínas celulares. Para causar infecção, os patógenos intrometem-se com vias de sinalização intracelulares essenciais das células do hospedeiro, diferentes patógenos muitas vezes sequestram as mesmas vias intracelulares. As cascatas de fosforilação das células do hospedeiro são um dos alvos preferenciais das bactérias infecciosas.

Neste estudo, usando *L. monocytogenes* como patógeno modelo, mostrámos que diferentes linhas celulares eucariotas apresentam um padrão de fosforilação de proteínas variável durante a infecção. Direcionámo-nos essencialmente para proteínas que apresentam níveis de fosforilação variáveis em resíduos de tirosina despoletados pela infecção por *Listeria*. Identificámos duas proteínas do citosqueleto, a miosina 9 (Myh9) e a citoqueratina 18 (CK18), diferencialmente fosforiladas em resposta à entrada de *Listeria* nas células do hospedeiro. Demonstrámos que a Myh9 não só é fosforilada em tirosina durante o tempo de infecção mas também é recrutada em conjunto com a actina ao local de entrada da bactéria. Conseguímos ainda mostrar que a entrada da *Listeria* em células não-fagocíticas é bloqueada por inibição química da actividade da Myh9. Surpreendentemente, a redução da expressão da Myh9, através de técnicas de RNAi, levou a um aumento da entrada de *Listeria* nas células testadas. Estes resultados apontam assim para o papel de uma nova classe de miosina na internalização de *Listeria*, correlacionando pela primeira vez uma modificação pós-transducional em miosina e o seu papel na infecção por *Listeria*. Neste estudo, mostramos ainda que há um enriquecimento de CK18 na proximidade dos locais de entrada de *Listeria* em células epiteliais Caco-2. Os nossos resultados preliminares indicam que em células com baixa expressão de CK18 o nível de entrada de *Listeria* é reduzido.

A identificação dos resíduos fosforilados de tirosina da Myh9 e CK18 e a sua mutagénese directa irá ajudar a descrever o papel directo das tirosinas fosforiladas na entrada de bactérias.

Este trabalho identificou duas novas proteínas do hospedeiro envolvidas no processo infeccioso de *Listeria* e poderá contribuir para a identificação de novas cascatas de sinalização sequestradas por patógenos de modo a promover a sua internalização.