

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

Análise global da expressão gênica de
***Xylella fastidiosa* submetida a estresses ambientais**

Tie Koide

Tese de Doutorado

Orientadora: Profa. Dra. Suely Lopes Gomes

SÃO PAULO
07/07/2006

(Sete de Julho de 2006)

Aos meus queridos pais, Kiyomi e Mirian Koide

Ao meu marido Ricardo

AGRADECIMENTOS

- À Prof. Dra. Suely Lopes Gomes, pela orientação desde a iniciação científica, sempre de forma séria e competente.
- Aos meus pais, Kiyomi e Mirian e meus irmãos Emi e Kiyoshi, pelo carinho, apoio, momentos divertidos e tudo mais!
- Ao Ricardo Vêncio, por todos os trabalhos em parceria e pelo amor e carinho no nosso dia-a-dia.
- À Prof. Dra. Marilis Marques e José Freire da Silva Neto pelos trabalhos em colaboração e discussões sempre pertinentes.
- À Rita de Cássia Simão, pela dedicação e paciência em me ensinar a trabalhar no laboratório.
- Ao Marcelo Avedissian e Christian Kohler pelas contribuições no início do trabalho de choque térmico.
- Aos colegas Paulo Zaini, Adriana Matsukuma e Leandro Moreira pelo trabalho em equipe na construção do microarranjo e comparação de cepas de *Xylella*. À Adriana e Denise por estarem sempre disponíveis a ajudar no laboratório CAGE.
- À Sandra Mara Fernandes, pelo trabalho eficiente que torna nossa vida no laboratório mais fácil e pelo seu jeito calmo de ser.
- À Luci Cattapan, pela grande amizade, trabalho sério, troca de receitas e experiências de vida.
- À Raphaela Georg, pela agradável companhia nas viagens a congressos e claro, no dia-a-dia também.
- À Karina Ribichich, pela companhia no karatê, passeio de veleiro... e claro, por ser uma pessoa séria e extremamente responsável no trabalho.
- À Sílvia Salem-Izaac, por testar os programas de análise de microarranjos e contribuir para melhorá-los.
- À Cristina Alvarez-Martinez, pelas conversas divertidas e ajuda no laboratório.
- Aos colegas que fizeram ou fazem do laboratório um lugar agradável de se trabalhar, sempre disponíveis para ajudar e discutir: Regina Baldini, Michelle Susin, Rogério, André, José Humberto Tambor e Luciana Pugliese.
- À FAPESP, pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	2
ABREVIATURAS.....	3
Lista de figuras e tabelas.....	4

I. INTRODUÇÃO

1. <i>Xylella fastidiosa</i>	6
2. Análise de expressão gênica em larga escala	9
3. Genômica Funcional de <i>Xylella fastidiosa</i>	11
4. Resposta a estresses ambientais	13
4.1. Resposta a estresse térmico	15
4.2. Resposta a estresse osmótico e salino	17
OBJETIVOS	21

II. MATERIAL E MÉTODOS

1. Soluções e meios de cultura	22
2. Cultivo de <i>Xylella fastidiosa</i> e condições de estresse	22
3. Extração de RNA	23
4. Microarranjos de DNA	24
4.1. Amplificação de fragmentos ORF-específicos	24
4.2. Preparação dos microarranjos de DNA de <i>Xylella fastidiosa</i>	25
4.3. Síntese dos cDNAs e marcação com fluoróforos	26
4.4. Hibridização.....	26
4.5. Quantificação dos sinais de fluorescência	26
4.6. Normalização dos dados	27
4.7. Determinação dos genes diferencialmente expressos	27
4.8. Agrupamento dos genes de acordo com o perfil de expressão	29
4.9. Determinação das categorias funcionais altamente representadas	29
5. RT-PCR quantitativo	30
6. Ensaio de Extensão de Oligonucleotídeo	31
7. Busca <i>in silico</i> por promotores dependentes de σ^{32}	33

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Construção dos microarranjos de DNA de <i>Xylella fastidiosa</i>	34
2. Desenvolvimento de ferramentas para análise de dados de microarranjos de DNA	37
2.1. <i>HTself</i> : teste estatístico baseado em experimentos homotípicos	38
2.2. <i>BayGO</i> : análise bayesiana de termos de ontologia enriquecidos em dados de microarranjos de DNA.	46
2.3. <i>SpotWhatR</i> : um sistema de análise de dados de microarranjos de DNA com interface amigável	51
3. Análise global da expressão gênica de <i>Xylella fastidiosa</i> em resposta a estresses ambientais	57
3.1. Choque térmico	
3.1.1. Análise global da expressão gênica durante o choque térmico	57
3.1.2. Série temporal	60
3.1.3. Validação dos perfis de expressão por RT-PCR quantitativo	65
3.1.4. Função dos genes diferencialmente expressos	67
3.2. Estresse salino e osmótico	
3.2.1. Análise global da expressão gênica durante o choque salino e osmótico.....	78

3.2.2. Série temporal	85
3.2.3. Validação dos perfis de expressão por RT-PCR quantitativo	93
3.2.4. Função dos genes diferencialmente expressos em condições de estresse	96

IV. DISCUSSÃO FINAL

1. Métodos para análise de dados de microarranjos de DNA	105
2. Resposta a estresses ambientais	106

V. CONCLUSÕES	118
----------------------------	-----

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	119
---	-----

MATERIAL SUPLEMENTAR	130
-----------------------------------	-----

CURRICULUM VITAE

RESUMO

Xylella fastidiosa é uma bactéria fitopatogênica, responsável por doenças em diversas plantas de importância econômica. Diversas cepas têm sido estudadas, porém, pouco se sabe a respeito da resposta a estresses ambientais em *X. fastidiosa*. Utilizando a tecnologia de microarranjos de DNA, verificou-se a resposta global aos estresses térmico, salino e osmótico em nível de transcrição. Os experimentos foram realizados em séries temporais, os perfis de expressão gênica dos genes diferencialmente expressos foram agrupados e validados por RT-PCR quantitativo. No choque térmico, 261 genes foram induzidos (9,7%) e 222 genes foram reprimidos (8,3%). Dentre os genes altamente induzidos, destacam-se os que codificam proteínas de choque térmico (Hsps), que previnem a desnaturação e a formação de agregados protéicos ou degradam polipeptídeos irreversivelmente desnaturados. A partir da determinação do início de transcrição de seis genes altamente induzidos no choque térmico, propôs-se um consenso para promotores dependentes do fator sigma alternativo que controla a resposta ao choque térmico, σ^{32} . Observou-se também a indução de genes relacionados ao estresse extracitoplasmático, que são regulados pelo fator sigma alternativo σ^E . No choque osmótico e salino, os genes codificando a maioria das Hsps foram reprimidos na exposição prolongada a esses estresses, indicando que a resposta não é mediada por σ^{32} ou σ^E . Dos 142 genes induzidos tanto no estresse salino como osmótico, 57% codificam proteínas hipotéticas ou hipotéticas conservadas, indicando uma possível função na resposta a estes estresses. Observou-se a repressão de genes relacionados à síntese protéica e ao metabolismo intermediário nos três estresses analisados, além da indução de genes relacionados à virulência como toxinas e adesinas, revelando a complexa rede de genes envolvida na resposta a estresses ambientais.

Para auxiliar a análise de dados de microarranjos de DNA, foram desenvolvidas três ferramentas de bioinformática: *HTself*, utilizada na determinação de genes diferencialmente expressos; *BayGO*, utilizada na análise categorias funcionais altamente representadas dentre os genes de interesse e *SpotWhatR*, uma plataforma que integra programas utilizados nas diversas etapas da análise e pré-processamento de dados de microarranjos, com uma interface de fácil utilização. Estas ferramentas foram utilizadas com sucesso e estão disponíveis livremente para outros pesquisadores.

ABSTRACT

Xylella fastidiosa is a phytopathogenic bacterium responsible for diseases in many economically important crops. Although different strains have been studied, little is known about *X. fastidiosa* stress responses. To investigate *X. fastidiosa* genes involved in heat, salt and osmotic shock responses, we performed a whole genome microarray analysis in time-course experiments. The expression profiles of the differentially expressed genes were grouped and their expression patterns were validated by quantitative RT-PCR experiments. During heat shock, 261 genes were induced (9.7%) and 222 genes were repressed (8.3%). Among the differentially expressed genes, the ones presenting the highest induction ratios encode heat shock proteins (Hsps), which prevents protein misfolding and aggregation or promote the degradation of the irreversibly denatured polypeptides. We determined the transcription start sites of six heat shock inducible genes and analyzed their promoter regions, which allowed us to propose a putative consensus for σ^{32} promoters in *X. fastidiosa*. We also observed the induction of genes related to the extracytoplasmic stress response, that are regulated by the alternative sigma factor σ^E . During prolonged exposure to salt and osmotic stress, genes encoding most of the Hsps were repressed, indicating that the response is not mediated by σ^{32} or σ^E . Among the 142 genes induced by both salt and osmotic stress, 57% encode hypothetical or conserved hypothetical proteins, indicating a possible role of these genes in the stress response. In addition, we observed the repression of genes related to protein biosynthesis and intermediary metabolism during the three stresses tested, besides the induction of genes related to virulence such as toxins and adhesins, revealing the complex network of genes that work together in response to environmental stresses.

To facilitate the microarray data analysis process, we developed three bioinformatics tools: *HTself*, which is used to determine the differentially expressed genes; *BayGO*, which aims at finding over-represented gene categories and *SpotWhatR*, a system that integrates programs used in different steps of microarray data analysis in a user-friendly interface. These tools were successfully used and are freely available to the research community.

ABREVIATURAS

µg: micrograma

µl: microlitro

cDNA: DNA complementar

DEPC: Dietilpirocarbonato

DNA: Ácido desoxiribonucléico

DNase: Desoxirribonuclease

dNTPs (dATP, dCTP, dGTP e dTTP): 2'-desoxirribonucleotídeo-5'-trifosfato de adenina, citosina, guanina e timina, respectivamente.

DO: Densidade ótica

DTT: Ditiotreitól

EDTA: Ácido etilenodiaminotetracético

fmol: femtomol

g: unidades de gravidade

h: hora

kb: quilobase

M: Molar

mg: miligrama

min: minutos

mJ: milijoule

ml: mililitro

mM: milimolar

MOPS: Ácido 3-[N-morfolino] propasulfônico

mRNA: ácido ribonucléico mensageiro

ng: nanograma

nm: nanômetro

°C: graus Celcius

ORF: região aberta de leitura (*Open Reading Frame*)

pb: pares de base

PCR: reação em cadeia pela polimerase

pmol: picomoles

ppGpp: tetrafosfato de guanosina

RNA: Ácido ribonucléico

RNase: Ribonuclease

rpm: rotações por minuto

rRNA: RNA ribossômico

SDS: Dodecil sulfato de sódio

Tris: hidroxometil aminometano

U: unidades

UV: ultravioleta

V: Volts

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Sintomas da Clorose Variegada de Citros e o agente causador da doença.....	8
Figura 2: Esquema de um experimento de microarranjo de DNA	10
Figura 3: Eletroforese em gel de agarose dos produtos de PCR depositados nos microarranjos.....	35
Figura 4: Imagem bicolor de uma lâmina de microarranjo de DNA de <i>Xylella fastidiosa</i>	36
Figura 5: Experimento homotípico utilizando o microarranjo de DNA de <i>Xylella fastidiosa</i>	41
Figura 6: Intercepção de intervalos durante a execução do algoritmo do <i>HTself</i>	43
Figura 7: Interface <i>web</i> para utilização do método <i>HTself</i>	45
Figura 8: Interface com menus interativos para a utilização de ferramentas de análises de dados de microarranjos de DNA.....	52
Figura 9: Exemplos de diferentes métodos de normalização aplicados a dados de <i>X. fastidiosa</i> e <i>B. emersonii</i>	54
Figura 10: Visualização dos agrupamentos Hierárquico e <i>K-means</i> , utilizando as ferramentas disponíveis no sistema <i>SpotWhatR</i>	56
Figura 11: Genes diferencialmente expressos no choque térmico, agrupados por categorias funcionais.	59
Figura 12: Análise de componentes principais para os genes diferencialmente expressos durante o choque térmico.	60
Figura 13: Agrupamento dos genes diferencialmente expressos durante o choque térmico.....	61
Figura 14: Mudanças globais na expressão gênica em resposta ao choque térmico.....	64
Figura 15: Níveis de expressão durante o choque térmico de 10 genes selecionados, analisados por RT-PCR quantitativo e por microarranjos de DNA	66
Figura 16: Determinação do início de transcrição dos os genes <i>groES</i> , <i>dnaK</i> , <i>grpE</i> , <i>clpB</i> , <i>htpX</i> e <i>hspA</i> em experimentos de extensão de oligonucleotídeo.....	69
Figura 17: Matriz de probabilidade para os promotores dependentes de σ^{32}	71
Figura 18: Curvas de crescimento de <i>X. fastidiosa</i> cepa 9a5c em meio PW, na presença de diferentes concentrações de NaCl ou sacarose.....	79
Figura 19: Genes diferencialmente expressos no estresse causado por NaCl, agrupados por categorias funcionais.....	83
Figura 20: Genes diferencialmente expressos no estresse causado por sacarose, agrupados por categorias funcionais	84
Figura 21: Análise de componentes principais para os dados de NaCl e sacarose	85
Figura 22: Agrupamento dos genes diferencialmente expressos em NaCl	88
Figura 23: Agrupamento dos genes diferencialmente expressos em sacarose 300mM	91
Figura 24: Níveis de expressão de 7 genes durante o estresse salino analisados por RT-PCR quantitativo e por microarranjos de DNA	94

Figura 25: Níveis de expressão de 7 genes durante o estresse causado por sacarose, analisados por RT-PCR quantitativo e por microarranjos de DNA	95
Figura 26: Genes induzidos em mais de um dos estresses testados em <i>X. fastidiosa</i>	108
Figura 27: Genes reprimidos em mais de um dos estresses testados em <i>X. fastidiosa</i>	109
Figura 28: Genes induzidos nos estresses salino e osmótico em <i>X. fastidiosa</i>	113
Figura 29: Genes reprimidos nos estresses salino e osmótico em <i>X. fastidiosa</i>	114

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Oligonucleotídeos utilizados nos experimentos de RT-PCR quantitativo	31
Tabela 2: Oligonucleotídeos utilizados nos ensaios de extensão de oligonucleotídeo	33
Tabela 3: Termos do <i>Gene Ontology</i> considerados altamente representados pelo método <i>BayGO</i>	50
Tabela 4: Genes com os maiores níveis de indução durante o choque térmico	68
Tabela 5: Sobrevivência após choque salino ou choque osmótico	80
Tabela 6: Número de genes diferencialmente expressos somente em NaCl, somente em sacarose e comuns aos dois estresses, em cada um dos tempos de estresse e considerando todos os tempos analisados.....	81
Tabela 7: Genes com os maiores níveis de indução durante o choque salino	89
Tabela 8: Genes com os maiores níveis de indução durante o choque osmótico	92

LISTA DE TABELAS SUPLEMENTARES

Tabela S1: Categorias funcionais dos genes de <i>X. fastidiosa</i>	130
Tabela S2: Genes induzidos durante o choque térmico.....	132
Tabela S3: Genes reprimidos durante o choque térmico.....	136
Tabela S4: Agrupamento dos genes diferencialmente expressos no choque térmico.....	140
Tabela S5: Prováveis promotores dependentes de σ^{32} , encontrados pela análise <i>in silico</i> nos genes induzidos pelo choque térmico.....	149
Tabela S6: Genes induzidos durante o choque salino.....	150
Tabela S7: Genes reprimidos durante o choque salino.....	156
Tabela S8: Agrupamento dos genes diferencialmente expressos no choque salino.....	159
Tabela S9: Genes induzidos durante o choque osmótico.....	168
Tabela S10: Genes reprimidos durante o choque osmótico.....	171
Tabela S11: Agrupamento dos genes diferencialmente expressos no choque osmótico.....	173
Tabela S12: Prováveis promotores dependentes de σ^{70} , encontrados pela análise <i>in silico</i> nos genes induzidos pelo choque salino e osmótico.....	178

I. INTRODUÇÃO

1. *Xylella fastidiosa*

Xylella fastidiosa, uma bactéria gram-negativa pertencente ao subgrupo gamma das proteobactérias (Wells *et al.*, 1987), é responsável por doenças em plantas de grande importância econômica como a doença de Pierce (PD) em videiras, a Clorose Variiegada de Citros (CVC) (Rosseti *et al.*, 1990) e outras doenças em plantas de café, ameixa, amêndoa e oleandro (Hopkins, 1989).

No Brasil, a CVC - popularmente conhecida como amarelinho - causa grandes prejuízos econômicos pois os frutos pequenos e endurecidos não têm valor comercial. Outros sintomas das plantas infectadas com a CVC são (Figura 1): a clorose na lâmina foliar, lesões causadas por goma na parte inferior das folhas e estresse de água e nutrientes associados a agregados da bactéria, que podem causar a oclusão do xilema (Lee *et al.*, 1991). A partir 1987, a CVC espalhou-se rapidamente pela transmissão via insetos que se alimentam da seiva do xilema das plantas. Onze espécies de cigarrinhas (gênero *Cicadellidae*) já foram identificadas como vetores de *X. fastidiosa* (Redak *et al.*, 2004). No estado de São Paulo, responsável por cerca de 30% da produção mundial de citros, a doença afetou aproximadamente 43% das plantações no ano de 2005, segundo dados do Fundo de Defesa da Citricultura (Fundecitrus).

Os mecanismos responsáveis pela patogenicidade da bactéria começaram a ser desvendados após o seqüenciamento completo do genoma da cepa 9a5c de *Xylella fastidiosa* que causa a CVC (Simpson *et al.*, 2000). O genoma seqüenciado consiste em um cromossomo principal (2.679.305 pb) e dois plasmídeos: o mini-plasmídeo pXF1.3 (1.285 pb) e o mega-plasmídeo pXF51 (51.158 pb). Foram preditas 2904 regiões abertas de leitura no genoma, das quais 47% tiveram uma possível função atribuída segundo a similaridade de seqüência com outros organismos. Com base nos genes identificados, os mecanismos de patogenicidade e virulência da bactéria propostos sugerem o envolvimento de toxinas como hemolisinas,

bacteriocinas e colicinas; genes relacionados ao metabolismo de ferro; proteínas utilizadas na interação entre bactérias e entre a bactéria e o hospedeiro, como fimbrias, adesinas e hemaglutininas; genes relacionados à degradação da parede celular das plantas, como poligalactorunases e endoglucanases; além de diversos transportadores (Simpson *et al.*, 2000; Meidanis *et al.*, 2002).

É importante ressaltar que *Xylella fastidiosa* (cepa 9a5c) foi o primeiro fitopatógeno a ter o genoma completamente seqüenciado, revelando genes que haviam sido identificados anteriormente somente em patógenos animais, indicando que as bases moleculares da patogenicidade são conservadas (Dow & Daniels, 2000; Lambais *et al.*, 2000; Simpson *et al.*, 2000). Atualmente, há 14 genomas completos de bactérias fitopatogênicas e outros 19 estão sendo seqüenciados (Setubal *et al.*, 2005). Dentre estes genomas, destacamos o da cepa Temecula, responsável pela doença de Pierce (Van Sluys *et al.*, 2003) e das cepas Dixon e Ann-1 que infectam amêndoa e oleandro, respectivamente, que foram parcialmente seqüenciadas (Bhattacharyya *et al.*, 2002a; Bhattacharyya *et al.*, 2002b; Van Sluys *et al.*, 2003) e permitiram avanços no estudo da genômica comparativa em relação à especificidade do hospedeiro.

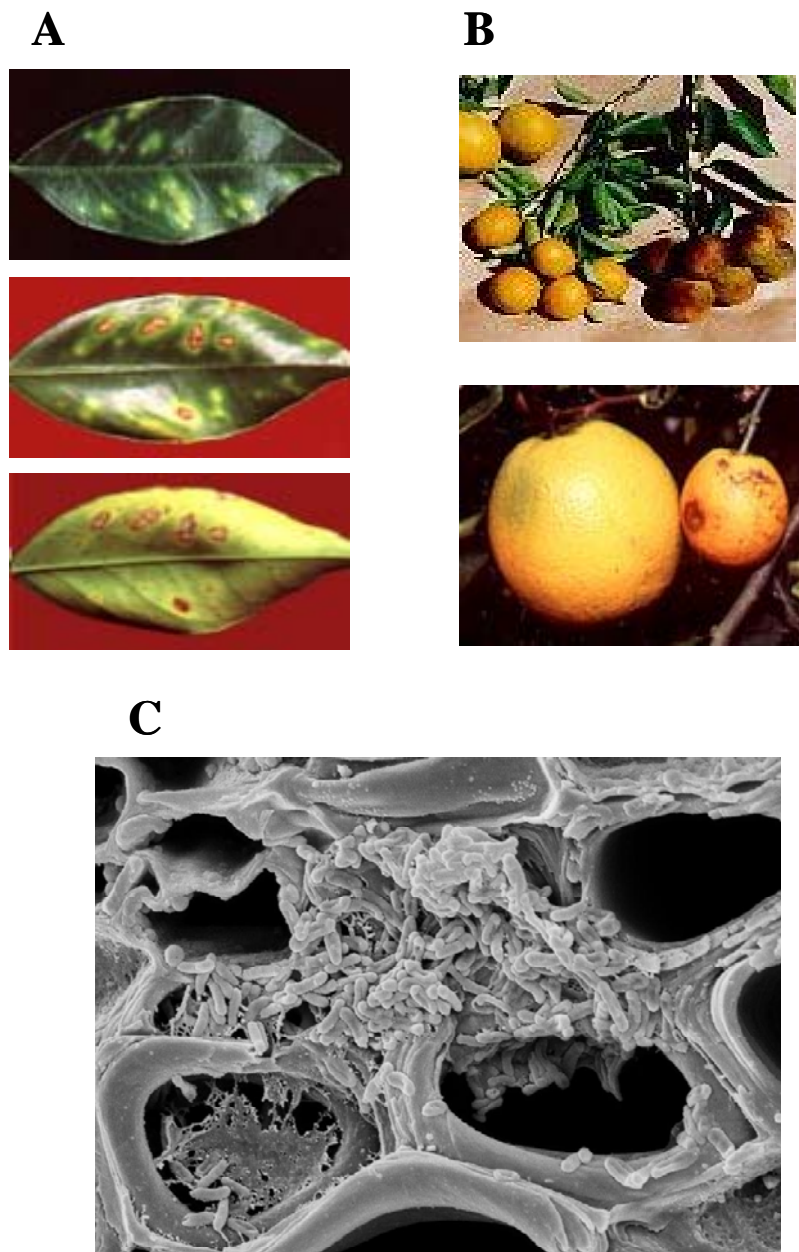


Figura 1: Sintomas da Clorose Variegada de Citros e o agente causador da doença: (A) clorose na lâmina foliar, pequenas manchas amareladas espalhadas na face superior da folha que correspondem a lesões de cor palha face inferior da folha (fonte: Fundecitrus); (B) frutos de tamanho reduzido e com queimaduras de sol (fonte: Fundecitrus); (C) microscopia eletrônica de *X. fastidiosa* obstruindo o xilema de citros (fonte: Kitajima, E.W.).

2. Análise de expressão gênica em larga escala

A disponibilidade de grande quantidade de informação obtida pelo seqüenciamento de genomas impulsionou o desenvolvimento e a utilização de técnicas de análise funcional de genes em larga escala, como a análise serial da expressão gênica (SAGE) utilizada para eucariotos (Velculescu *et al.*, 1995) e os microarranjos de DNA (Bowtell, 1999).

Os microarranjos de DNA foram desenvolvidos na década de 90 e consistem em lâminas de vidro onde milhares de fragmentos de DNA de seqüência conhecida são imobilizados de forma ordenada (Schena *et al.*, 1995). Cada fragmento de DNA é denominado “elemento” ou “ponto”, e serve como sonda para um gene específico. O princípio da técnica é a hibridização competitiva entre uma amostra teste e uma amostra controle, marcadas com diferentes fluoróforos, Cy3 ou Cy5. Os estudos mais comuns são os de transcriptoma ou análise de transcritos em larga escala, onde os mRNAs das condições teste e controle são submetidos à transcrição reversa e marcados com diferentes fluoróforos. Após a hibridização dos cDNAs marcados, a lâmina é varrida por lasers de comprimento de onda específico para cada um dos fluoróforos, gerando imagens independentes para as amostras teste e controle. As imagens obtidas são usadas para quantificar a intensidade de fluorescência de cada ponto, permitindo obter a relação entre a fluorescência nas condições teste e controle e assim determinar o nível relativo de expressão dos genes (Figura 2).

Nos últimos anos, a tecnologia de microarranjos de DNA tem sido otimizada em todos os aspectos, desde a construção das lâminas, passando pela marcação com fluoróforos, a aquisição das imagens e, principalmente, a análise dos dados em larga escala (Holloway *et al.*, 2002). Os microarranjos de DNA têm sido utilizados não só para medir a expressão relativa de genes em nível transcricional como também em estudos de genômica comparativa e, mais recentemente, na identificação de seqüências regulatórias que interagem com uma determinada proteína e no estudo de RNAs regulatórios, dentre outras aplicações (Hoheisel, 2006).

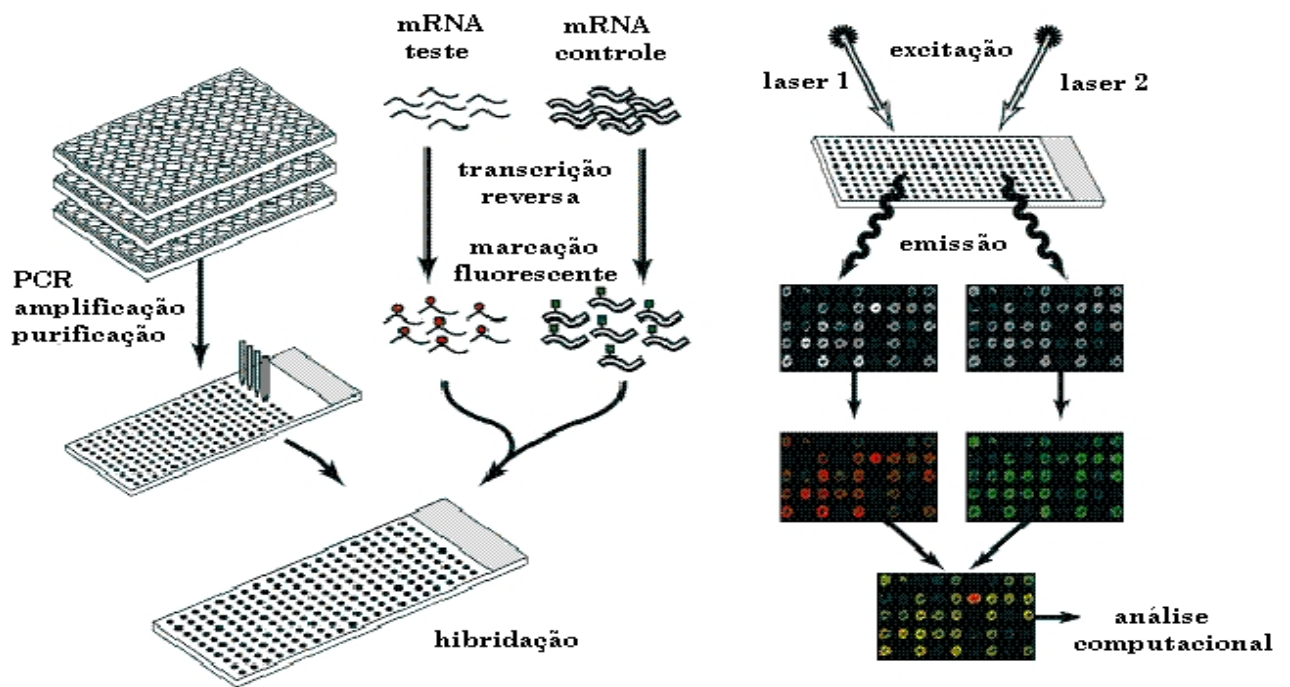


Figura 2: Esquema de um experimento de microarranjo de DNA (adaptado de Duggan *et al*, 1999). Fragmentos dos genes de um organismo são amplificados por PCR, purificados e imobilizados em lâminas de vidro utilizando um robô. A partir do RNA das amostras teste e controle, os cDNAs são sintetizados e marcados com os fluoróforos Cy3 e Cy5 e hibridizados nas lâminas contendo os fragmentos de DNA. A lâmina é varrida com lasers de comprimento de onda específicos utilizando um escaner e são geradas imagens monocromáticas. Após a análise das imagens, são extraídos os valores de intensidade de fluorescência para cada ponto nas condições teste e controle, o que permite determinar o nível relativo de expressão dos genes individuais.

A análise de dados de microarranjos é uma etapa complexa e multi-fatorial (Slonim, 2002). As diversas fases incluem: a quantificação dos sinais de fluorescência através de programas de segmentação de imagens, a normalização dos dados para corrigir diferenças na incorporação dos fluoróforos e intensidade de fluorescência, a determinação de genes diferencialmente expressos, as análises de agrupamento dos genes que apresentam perfis de expressão semelhantes e a busca por categorias funcionais mais representadas dentre os genes de interesse (Quackenbush, 2001; Koide *et al.*, 2006a). Centenas de artigos foram publicados com diferentes métodos de análise, porém, não há um consenso sobre os métodos utilizados (Hoheisel, 2006). Há esforços em relação à padronização e à disponibilização dos resultados em bancos de dados públicos como o GEO (GeneExpression Omnibus) (Barrett *et al.*, 2005), bem como a utilização de vocabulários controlados para lidar com a imensa quantidade de informação (Ashburner *et al.*, 2000). A necessidade e a padronização dos experimentos para a validação dos resultados obtidos através de técnicas de larga escala também vem sendo amplamente adotados e discutidos pela comunidade científica (Chuaqui *et al.*, 2002).

3. Genômica Funcional de *Xylella fastidiosa*

Os estudos pós-genômicos de *Xylella fastidiosa* incluem o desenvolvimento de ferramentas para a obtenção de mutantes, estudos de genômica comparativa, expressão gênica em larga escala em nível transcricional e proteômica. Estes estudos vêm permitindo uma maior compreensão da função e expressão dos genes e seu envolvimento com a patogenicidade da bactéria.

Em relação à obtenção de mutantes de cepas isoladas de citros, somente as cepas J1a12 e B111, isoladas de *Citrus sinensis* em Jales e Bebedouro (São Paulo), respectivamente, apresentaram-se susceptíveis à transformação utilizando vetores replicativos contendo a origem de replicação do cromossomo de *X. fastidiosa* (Monteiro *et al.*, 2001). A cepa J1a12 também foi transformada utilizando vetores com uma origem de replicação plasmidial (da

Silva Neto *et al.*, 2002) e pelo sistema de transposome (Koide *et al.*, 2004). Entretanto, até o momento não há relatos de mutantes da cepa de citros seqüenciada 9a5c, enquanto que a cepa Temecula que infecta videiras tem sido facilmente transformada (Guilhabert *et al.*, 2001; Feil *et al.*, 2003; Newman *et al.*, 2004).

Apesar da cepa J1a12 ter sido isolada a partir de plantas com sintomas de CVC, testes de patogenicidade realizados em plantas de citros e tabaco, mostraram que esta linhagem não é patogênica (Koide *et al.*, 2004). A comparação do DNA genômico utilizando microarranjos de DNA mostrou que 14 seqüências codificadoras presentes na cepa patogênica 9a5c estavam ausentes ou eram altamente divergentes na cepa não-patogênica J1a12. Dentre elas, um gene codificando uma arginase e uma adesina da fimbria estavam ausentes em J1a12, o que pode estar relacionado com a incapacidade da cepa se estabelecer no hospedeiro e com seu fenótipo menos agregado *in vitro* (Koide *et al.*, 2004). Outros estudos de genômica comparativa incluem a comparação de cepas de *X. fastidiosa* isoladas de hospedeiros distintos, onde se observaram diversos eventos de transferência horizontal de genes (Nunes *et al.*, 2003); e a comparação das cepas Temecula e 9a5c. Este estudo comparou os resultados obtidos através de microarranjos de DNA com os dados do seqüenciamento das duas cepas, indicando a relevância e confiabilidade da utilização desta tecnologia para estudos de genômica comparativa (Costa de Oliveira *et al.*, 2002).

Estudos de expressão gênica utilizando microarranjos de DNA mostraram condições em que a expressão de genes relacionados à patogenicidade são induzidos. Na condição de biofilme, genes relacionados à fimbria do tipo IV e ao sistema de secreção do tipo II apresentaram maior expressão do que em células planctônicas (de Souza *et al.*, 2004); em bactérias recém-isoladas da planta, genes relacionados à adesão e à adaptação ao hospedeiro mostraram-se mais expressos do que em bactérias cultivadas por várias passagens (de Souza *et al.*, 2003). A análise do proteoma de *X. fastidiosa* permitiu a identificação dos produtos de 142 genes dentre proteínas intracelulares e secretadas no meio, tendo destaque também as

proteínas envolvidas na adesão (Smolka *et al.*, 2003). Apesar dos avanços no conhecimento sobre a fisiologia de *X. fastidiosa*, pouco se sabe sobre a resposta a estresses ambientais e sua regulação neste importante fitopatógeno.

4. Resposta a estresses ambientais

Em plantas infectadas, as bactérias estão sujeitas a diversos tipos de estresses ambientais, como alterações na temperatura, disponibilidade de nutrientes, estresse hídrico e presença de moléculas tóxicas. Conseqüentemente, os mecanismos utilizados pela bactéria para responder e se proteger de diferentes tipos de estresse são essenciais para sua sobrevivência e transmissão. Diversos mecanismos de adaptação a estresses ambientais foram caracterizados em muitas bactérias, patogênicas ou não (Dow & Daniels, 2000). Genes cujos produtos estão relacionados com patogenicidade geralmente não são expressos constitutivamente, mas possuem regulação ambiental. Em *Erwinia chrysanthemi*, patógeno de planta cuja virulência é devida principalmente à produção de enzimas pectinolíticas, a transcrição desses genes é favorecida por condições ambientais como a presença de pectina, fase de crescimento estacionário e limitação de ferro e oxigênio (Hugouvieux-Cotte-Pattat *et al.*, 1996).

Na maioria dos casos, a resposta bacteriana leva à ativação de genes cujos produtos respondem a um dado estresse físico-químico. Fatores que regulam esses genes respondem a sinais específicos, ambientais ou celulares, estimulando ou inibindo a transcrição, tradução ou algum outro evento na expressão gênica de modo a modificar adequadamente a taxa de síntese dos produtos gênicos, obtendo a adaptação fisiológica e bioquímica necessária.

As alterações na expressão gênica em resposta a um estímulo do ambiente podem ser controladas por fatores sigma alternativos, que são subunidades da RNA polimerase e direcionam o reconhecimento de promotores pela polimerase para a expressão de um conjunto específico de genes. Em condições normais de crescimento, o fator sigma vegetativo ou sigma

principal é responsável pela maior parte da transcrição na bactéria. Já em resposta a condições adversas, os fatores sigma alternativos são ativados ou têm sua concentração aumentada na célula e competem com o sigma vegetativo pelo cerne da RNA polimerase, alterando assim o padrão de expressão gênica do organismo. O regulon de um único fator sigma pode ser formado por centenas de genes, constituindo um eficiente mecanismo de regulação gênica coordenada (Gruber & Gross, 2003).

Os fatores sigma podem ser classificados em duas famílias principais, com base na similaridade de seqüência de aminoácidos, estrutura e função: a família σ^{70} e a família σ^{54} . A família σ^{70} inclui o fator sigma vegetativo e fatores sigma alternativos envolvidos na resposta a estresses como o σ^{32} de choque térmico, o σ^S e o σ^B , de resposta geral a estresses em bactérias gram-negativas e positivas como *E. coli* e *Bacillus subtilis*; e os fatores sigma ECF ou de função extracitoplasmática, como o fator σ^E de *E. coli*. Os membros da família σ^{70} possuem estruturas conservadas, com maior conservação nas regiões responsáveis pelo reconhecimento das regiões promotoras -35 e -10, e na desnaturação do DNA na região -10 (Paget & Helmann, 2003). Já os membros da família σ^{54} necessitam de ativadores para formar o complexo aberto de transcrição na região promotora. Na maioria das espécies, o fator σ^{54} é chamado σ^N e controla uma variedade de processos fisiológicos, como o metabolismo de nitrogênio, expressão de genes relacionados com pili e flagelo, dentre outros (Buck *et al.*, 2000). Diversos fatores sigma alternativos também têm sido relacionados direta ou indiretamente com a regulação de genes virulência em bactérias patogênicas (Kazmierczak *et al.*, 2005).

No genoma de *X. fastidiosa* foram anotados genes codificando quatro fatores sigma putativos: σ^{70} ou sigma principal, σ^E de resposta a estresse extracitoplasmático, σ^{32} de resposta a choque térmico e um membro da família σ^{54} .

4.1. Resposta a estresse térmico

Quando uma célula é exposta a um aumento brusco na temperatura, seu programa de expressão gênica é alterado para se adaptar a este estresse ambiental. Uma resposta característica a este tipo de estresse é o aumento na taxa de síntese de uma classe de proteínas denominadas Hsps (*heat shock proteins*) ou proteínas de choque térmico. Elas atuam principalmente como chaperones moleculares, mediando o enovelamento e a montagem de polipeptídeos, ou como proteases, degradando os polipeptídeos irreversivelmente desnaturados. As Hsps são altamente conservadas em procariotos e eucariotos (Lindquist & Craig, 1988) e são classificadas em famílias de acordo com sua massa molecular: Hsp100, Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp10 e α -Hsps. Muitas dessas proteínas são também induzidas em outras condições de estresse ambiental como carência de nutrientes, mudanças na osmolaridade ou pH do meio.

A resposta ao choque térmico tem sido estudada extensivamente, tanto em bactérias gram-negativas como gram-positivas. Em *E.coli*, a expressão dos genes das Hsps é regulada positivamente pelo fator sigma alternativo σ^{32} , codificado pelo gene *rpoH*. A regulação dos níveis de σ^{32} é exercida por uma retroinibição onde as Hsps (DnaK, DnaJ e GrpE) direcionam σ^{32} para proteólise mediada por FtsH sob condições normais de temperatura (Gross, 1996). Como os níveis de DnaK e DnaJ são limitantes na célula, o aumento dos níveis de proteínas desenoveladas durante o choque térmico seqüestra essas chaperones, liberando o σ^{32} para ligar-se à RNA polimerase, direcionando-a para promotores específicos de genes de choque térmico (Yura & Nakahigashi, 1999). Além disso, o aumento da temperatura provoca um rápido aumento na tradução de σ^{32} devido à desestabilização da estrutura secundária do mRNA de *rpoH*, liberando o acesso dos ribossomos ao sítio de início da tradução do mensageiro (Morita *et al.*, 1999). Quando os níveis de DnaK aumentam, o fator σ^{32} é novamente seqüestrado, sendo inativado e degradado, desligando a resposta. Recentemente,

foi demonstrado que a maquinaria das chaperoninas GroES/EL também está envolvida na regulação da atividade e estabilidade de σ^{32} em *E.coli* (Guisbert *et al.*, 2004).

Diferente dos mecanismos descritos para *E. coli*, na bactéria gram-negativa *Caulobacter crescentus* do grupo α , a maquinaria de DnaKJ e os níveis de σ^{32} não estão envolvidos no desligamento da resposta ao choque térmico (da Silva *et al.*, 2003). A reativação do fator sigma vegetativo σ^{73} pela chaperone ClpB controla o desligamento da resposta ao choque térmico em *C. crescentus*, favorecendo o fator sigma vegetativo σ^{73} na competição com σ^{32} pelo cerne da RNA polimerase (Simao *et al.*, 2005).

Na bactéria gram-positiva *Bacillus subtilis*, as estratégias de regulação da resposta ao choque térmico são bastante distintas. Os genes induzidos por choque térmico são classificados em pelo menos seis grupos. Os genes da classe I são as chaperones DnaKJ-GrpE e GroESL, cuja expressão é controlada negativamente pelo repressor HrcA, que se liga a uma seqüência altamente conservada na região operadora denominada CIRCE – *Controlling Inverted Repeat of Chaperone Expression*. A classe II compreende mais de 100 genes que são regulados positivamente pelo fator sigma alternativo σ^B e estão envolvidos não somente na resposta ao choque térmico como também na resposta aos estresses salino, oxidativo, ácido, falta de oxigênio, glicose e fosfato, sendo denominado o regulon de resposta geral a estresses. Os genes da classe III codificam proteases dependentes de ATP e são regulados pelo repressor CtsR. Na classe IV há somente o gene *htpG* que codifica uma chaperone molecular, cujo regulador ainda é desconhecido, enquanto que na classe V estão dois genes codificando proteases ancoradas à membrana, regulados pelo sistema de dois componentes CssRS. Na classe VI estão genes com diversas funções, cujo mecanismo de regulação ainda é desconhecido (Schumann, 2003).

A disponibilidade da seqüência completa de diversos genomas bacterianos tem facilitado o estudo da resposta global ao choque térmico. A resposta ao aumento da temperatura em nível de transcrição foi descrita em diversas bactérias, desde organismos

modelo como *E. coli* (Richmond *et al.*, 1999) e *B. subtilis* (Helmann *et al.*, 2001), passando por organismos envolvidos em bioremediação como *Shewanella oneidensis* (Gao *et al.*, 2004) e diversos patógenos de mamíferos como *Campylobacter jejuni* (Stintzi, 2003), *Streptococcus* do grupo A (Smoot *et al.*, 2001), *Mycoplasma pneumoniae* (Weiner *et al.*, 2003), *Yersinia pestis* (Motin *et al.*, 2004) e *Neisseria meningitidis* (Guckenberger *et al.*, 2002). Estas análises globais utilizando microarranjos de DNA mostraram que a resposta ao aumento da temperatura provocou não só a indução de Hsps como também mudanças nos níveis de expressão de genes relacionados a outras funções celulares como biogênese de flagelo, reguladores da transcrição, genes relacionados a fagos, à composição da membrana e relacionados à patogênese. Foram feitos também estudos para caracterizar a resposta ao choque térmico em nível de proteína, como em *Bradyrhizobium japonicum* (Munchbach *et al.*, 1999), *Agrobacterium tumefaciens* (Rosen *et al.*, 2002) e *Myxococcus xanthus* (Otani *et al.*, 2001). Estes estudos em larga escala são um passo para a compreensão destes organismos como um sistema integrado em resposta a um dado estímulo ambiental.

Em *X. fastidiosa*, além do fator σ^{32} de choque térmico, foram anotados o fator σ^E envolvido na resposta a temperaturas extremas em *E. coli*, Hsps das famílias Hsp100, Hsp60, Hsp10 e α -Hsps. Além disso, foi verificada a presença do gene *hrcA* em um provável operon com os genes *grpE-dnaK-dnaJ* e uma seqüência CIRCE de ligação ao repressor HrcA a 5' do operon *groES-groEL*.

4.2. Resposta a estresse osmótico e salino

As bactérias geralmente mantêm a pressão osmótica intracelular maior do que a do meio de crescimento de forma a gerar o turgor celular, necessário para diversos processos como o crescimento e a divisão celular. O aumento da osmolaridade do meio pode desidratar o citoplasma, causando a plasmólise da célula; já em meio hipotônico, a entrada excessiva de água pode causar a lise celular. A capacidade de adaptação a mudanças na osmolaridade do

meio é, portanto, muito importante para a sobrevivência e tem sido associada à virulência em algumas bactérias patogênicas (Sleator & Hill, 2002).

Em resposta a um aumento da osmolaridade do meio, duas estratégias têm sido descritas para a adaptação de células procarióticas: a manutenção de uma alta concentração de sal no citoplasma e o acúmulo de osmoprotetores. A primeira é utilizada por organismos de crescimento restrito a ambientes de osmolaridade elevada que toleram altíssimas concentrações de sal no meio, como as halobactérias. Já o acúmulo de solutos compatíveis é amplamente utilizado e tem sido descrito em diversas bactérias como *E.coli*, *B. subtilis*, *Salmonella*, *Streptomyces*, dentre outras (Sleator & Hill, 2002).

Como resposta primária ao aumento da osmolaridade do meio, há um rápido aumento da concentração intracelular de K^+ . Em *E. coli*, os sistemas de tomada de K^+ envolvidos na resposta ao estresse osmótico são Trk e Kdp; em *B. subtilis*, os sistemas KtrAB e KtrCD. Para contrabalançar a carga de K^+ , há também um aumento na concentração de glutamato. A resposta secundária consiste no aumento da concentração citoplasmática de osmoprotetores (Heermann & Jung, 2004).

Solutos compatíveis são moléculas altamente solúveis, preferencialmente sem carga em pH fisiológico, que podem ser acumulados em altas concentrações sem perturbar as diversas funções celulares, auxiliando na manutenção do turgor celular. A ação dos solutos compatíveis é cosmotrópica, ou seja, eles aumentam as forças coesivas na estrutura da água, favorecendo a estabilização das estruturas nativas das proteínas. Existem diversos tipos de solutos compatíveis: aminoácidos (glutamato, prolina), derivados de aminácidos (ectoína, prolina, betaína), peptídeos, metilaminas (glicina-betaína, carnitina), polióis (glicerol, glicosilglicerol), açúcares (sacarose, trealose), dentre outros. Estes solutos podem ser sintetizados ou simplesmente transportados pela célula. Em *E. coli*, a síntese de trealose é feita via OtsAB; em *B. subtilis*, a prolina é sintetizada por ProABC e a glicina betaína é sintetizada a partir de colina via GbsAB (Bremer & Krämer, 2000).

A percepção da mudança na osmolaridade é mediada por proteínas osmosensoras que são proteínas integrais de membrana com extensões hidrofílicas. Alguns osmosensores atuam simultaneamente como osmoreguladores, como por exemplo os sistemas de transporte ProP de *E. coli* envolvido no transporte de prolina, BetP de *C. glutamicum* e OpuABC de *Lactococcus lactis*, envolvidos no transporte de glicina-betaína. Estas proteínas percebem um determinado estímulo, como a concentração de íons ou propriedades da membrana, e também atuam como transportadores na tomada efetiva de solutos compatíveis do meio.

Existem também osmosensores que regulam a expressão de genes que codificam osmoreguladores, constituindo sistemas de dois componentes: o sensor localizado na membrana tem um domínio de histidina quinase que, na presença do estímulo, transmite a informação via fosforilação para os reguladores de resposta. Alguns exemplos de sistemas de dois componentes envolvidos na resposta ao estresse osmótico são: o sistema KdpDE de *E. coli* envolvido na tomada de K^+ e o sistema EnvZ-OmpR que regula a expressão das porinas OmpC e OmpF em *E. coli*, que por sua vez, facilitam a difusão de moléculas hidrofílicas. Em resposta a um aumento na pressão osmótica, a expressão de OmpF é diminuída e OmpC tem sua expressão aumentada (Heermann & Jung, 2004).

Muitos estudos sobre o estresse osmótico em bactérias são realizados pela adição de NaCl ao meio de cultura. Além de causar o estresse osmótico, o íon Na^+ é tóxico para as células e portanto, é mantido em concentrações intracelulares menores do que as do meio externo. Para isso, há diversos sistemas envolvidos no transporte ativo de Na^+ que utilizam como fonte de energia ATP e sistemas acoplados a conversões metabólicas ou à respiração, além de antiporters de Na^+/H^+ (Padan & Krulwich, 2000). Os íons Cl^- também apresentam um papel na homeostase de Na^+ ativando os sistema de efluxo de Na^+ e sistemas de transmissão de sinal (Roessler *et al.*, 2003).

A resposta ao estresse osmótico envolve ainda mudanças na composição da membrana plasmática e da parede celular, além de alterações no nível de superrenovamento

do DNA. Um estudo utilizando microarraios de DNA mostrou também o envolvimento da alta salinidade na limitação de ferro e na repressão de genes relacionados à quimiotaxia e motilidade em *B. subtilis* (Steil *et al.*, 2003). Em *E. coli*, células submetidas ao estresse osmótico apresentaram alterações na respiração e diminuição da transcrição de genes de proteínas ribossômicas (Weber & Jung, 2002).

Os fatores sigma alternativos também estão envolvidos na resposta a mudanças na osmolaridade do meio, sendo que o choque hiperosmótico induz os regulons de σ^S , σ^{32} e σ^E em *E. coli* (Bianchi & Baneyx, 1999) e o regulon do fator σ^B em *B. subtilis* (Steil *et al.*, 2003) e do σ^B em *Streptomyces coelicolor*, que também está envolvido na resposta ao estresse oxidativo (Lee *et al.*, 2005). A resposta ao estresse salino e/ou osmótico também foi verificada em estudos em larga escala em *Shewanella oneidensis* (Liu *et al.*, 2005), *Desulfovibrio vulgaris* (Mukhopadhyay *et al.*, 2006), *Yersinia pestis* (Han *et al.*, 2005) e *Pseudomonas aeruginosa* (Aspedon *et al.*, 2006).

No genoma de *X. fastidiosa*, não foram anotados genes envolvidos no transporte de betáina, carnitina e colina, nem genes relacionados à síntese de trealose e ectoína. Foram porém descritos genes envolvidos na biossíntese de prolina, glutamato, transportadores de Na^+ e antiporters Na^+/H^+ e transportadores de aminoácidos polares (Simpson *et al.*, 2000; Meidanis *et al.*, 2002). Foram também identificados genes codificando MscL e YggB, que são canais sensíveis a estímulos mecânicos, os quais permitem o efluxo de solutos em condições hipoosmóticas (Booth & Louis, 1999), além de proteínas sensoras de membrana externa envolvidas na resposta ao estresse osmótico.

OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo analisar a expressão gênica global em nível transcricional de *Xylella fastidiosa* submetida a estresses ambientais. Para isso, a metodologia utilizada baseou-se no uso de microarranjos de DNA para o estudo dos estresses térmico e osmótico em *X. fastidiosa*. Até o momento, não há estudos de resposta a estresses em larga escala em bactérias fitopatogênicas.

II. MATERIAL E MÉTODOS

1. Soluções e meios de cultura

TAE : Tris-acetato 40 mM e EDTA 1 mM

TBE: Tris-base 89 mM; ácido bórico 89 mM; EDTA 2 mM pH 8,0

MOPS: MOPS 20 mM pH 7,0; acetato de sódio 5 mM; EDTA 0,1 mM

PW: fitona peptona 4,0 g/l; tripticase peptona 1,0 g/l; cloreto de hemina 0,001 %, K_2HPO_4 1,2 g/l; KH_2PO_4 1,0g/l; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,4 g/l; glutamina 0,4 %.

PWG: PW contendo glicose 0,5 %

2. Cultivo de *Xylella fastidiosa* e condições de estresse

A cepa 9a5c de *Xylella fastidiosa*, isolada a partir de *Citrus (L.) Osbeck* com sintomas de CVC foi cultivada em meio PW (Davis *et al.*, 1981) a 29°C, sob agitação de 150 rpm. A cultura foi mantida através de diluições seriadas (1/10). Culturas de *X. fastidiosa* cultivadas por 7 dias (fase de crescimento exponencial) foram submetidas ao estresse térmico a 40°C em um banho com agitação de 150 rpm. Alíquotas de 50 ml das culturas foram retiradas em cada um dos tempos de choque térmico (0, 7, 15, 25 e 45 min), centrifugadas a 5.000xg, a 4°C por 5 min e as células foram imediatamente congeladas em gelo seco. No choque osmótico, o estresse foi induzido pela adição de NaCl (concentração final 150 mM) ou sacarose (concentração final 300 mM) às culturas cultivadas por 7 dias em banho a 29°C com agitação de 150 rpm. Alíquotas de 50 ml das células foram retiradas em cada um dos tempos de estresse (0, 7, 15, 30 e 60 min), centrifugadas a 5.000xg, a 4°C por 5 min e as células foram imediatamente congeladas em gelo seco. Foram realizadas no mínimo três réplicas biológicas independentes para cada experimento.

3. Extração de RNA

O RNA total de *Xylella fastidiosa* foi obtido utilizando duas metodologias distintas: a extração utilizando fenol quente ou Trizol.

Fenol quente

As células congeladas em gelo seco foram ressuspensas em 1 ml de solução contendo acetato de sódio 20 mM, EDTA 1 mM e SDS 0,4%. Em seguida, adicionou-se 1 ml de fenol pré-aquecido a 65°C, equilibrado em tampão acetato de sódio 20 mM (pH 5,4) contendo EDTA 1 mM. A suspensão foi homogeneizada com forte agitação e incubada a 65°C por 15 min. A fase aquosa foi separada por centrifugação a 7.800xg. Após 3 extrações consecutivas com fenol, a fase aquosa foi coletada e tratada com o mesmo volume de clorofórmio e submetida à precipitação pela adição de 0,1 volume de acetato de sódio 3 M (pH 5,4) e 2 volumes de etanol 100%. Após centrifugação a 10.000xg por 15 min a 4°C, o sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado em etanol 70% e seco sob vácuo por 5 min.

Trizol

As células congeladas em gelo seco foram ressuspensas em 1 ml de Trizol (Invitrogen) e incubadas a 65°C por 10 min. A seguir, adicionou-se 200 µl de clorofórmio e as amostras foram agitadas vigorosamente por aproximadamente 15 s. Após 5 min de incubação a temperatura ambiente, as amostras foram centrifugadas a 12.000xg por 15 min a 4°C, a fase aquosa foi retirada e submetida à precipitação pela adição de 1 ml de isopropanol e incubação a -80°C ou em gelo seco por no mínimo 30 min. Após centrifugação a 12.000xg por 30 min a 4°C, o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi lavado com 1 ml de etanol 75% e seco sob vácuo por 5 min.

O RNA total foi tratado com 0,03U de DNase RQ1 (Promega) na presença de inibidor de RNase RNaseOUT (Invitrogen) ou RNAsin (Promega) por 30 min a 37°C, purificados por extração com fenol:clorofórmio (1:1) e precipitados pela adição de 0,1 volume de acetato de sódio 3 M (pH 5,4) e 2 volumes de etanol 100%. Após centrifugação a

10.000xg por 15 min a 4°C, o sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado em etanol 70% e seco sob vácuo por 5 min. O RNA total obtido foi ressuspensão em água DEPC e incubado a 65°C por 10 min. A quantificação dos RNAs e a avaliação do grau de pureza foram feitos pela medida da absorbância da amostra a 260 nm e a 280 nm, respectivamente. Para verificação da integridade dos RNAs, uma alíquota de cada amostra foi submetida a eletroforese em gel de agarose 1,5 % e formaldeído 2,2 M em tampão MOPS.

4. Microarranjos de DNA

4.1. Amplificação de fragmentos ORF-específicos

Os fragmentos de DNA ORF-específicos utilizados nos microarranjos foram produzidos a partir de oligonucleotídeos específicos (MWG Inc. ou Operon Technologies), desenhados utilizando uma adaptação do programa PRIMER3 (Rozen & Skaletsky, 2000) feita pelo Prof. Alan Durham do Departamento de Ciências da Computação do Instituto de Matemática e Estatística - USP. A lista completa dos oligonucleotídeos utilizados está disponível em <http://verjo19.iq.usp.br/xylella/microarray/Construction/>. As reações de PCR foram feitas em placas de 96 poços tendo como molde 100 ng de DNA genômico ou plasmidial de *Xylella fastidiosa* cepa 9a5c num volume final de 50 µl contendo MgCl₂ 2,5 mM, 50 pmol de cada oligonucleotídeo, dNTP 0,2 mM, 0,1 U de Taq DNA polimerase (BIOLASE) e tampão correspondente. As condições das reações de PCR foram: um passo de desnaturação inicial de 95°C por 5 min, seguida por 40 ciclos que consistem em: desnaturação a 95°C por 45 s, hibridização a 50°C por 30 s e extensão a 72°C por 1 min; e um passo final de polimerização a 72°C por 10 min. Os produtos das amplificações foram verificados em gel de agarose 1,2 % em tampão TAE.

Para aumentar a concentração dos produtos de PCR obtidos com os oligonucleotídeos do lote sintetizado pela MWG Inc, foi feita uma reamplificação a partir de 2

µl de uma diluição de 200 vezes das reações de PCR. No caso dos oligonucleotídeos fabricados pela Operon Technologies, não foi necessária a etapa de re-amplificação, pois a concentração de produto obtida na amplificação foi suficiente para a imobilização nas lâminas de vidro. Em alguns poucos casos a amplificação foi realizada a partir de cosmídeos selecionados da biblioteca genômica preparada durante o projeto de sequenciamento de *X. fastidiosa*. A biblioteca de 1056 cosmídeos foi fornecida pelo Prof. Jesus Ferro do *Brazilian Clone Collection Center*, UNESP, Jaboticabal.

4.2. Preparação dos microarranjos de DNA de *Xylella fastidiosa*

Os produtos da amplificação/reamplificação por PCR foram purificados em placas de filtração Multiscreen MAFBNOB50 (Millipore) e eluídos com 50 µl de Tris 10 mM pH 8,0. As placas de 96 poços foram combinadas manualmente em placas de 384 poços, utilizadas no equipamento para imobilizar os produtos de PCR na lâmina de vidro.

A concentração final dos produtos de PCR a serem imobilizados na lâmina de vidro deve estar entre 200-400 fmol/µl de DNA, sendo que cada ponto deve ter no mínimo 100 pg de DNA. Adicionou-se DMSO (50% v/v) às placas de 384 poços contendo os produtos de PCR amplificados para atingir essa concentração. Os produtos de PCR correspondentes a fragmentos ORF-específicos foram depositados em lâminas espelhadas do tipo 7 ou tipo 7 star (GE Healthcare) utilizando o Generation III Microarray Spotter (GE Healthcare). O aparelho permite a deposição de 4608 amostras de DNA organizadas em 12 subconjuntos de 384 pontos (12 linhas x 32 colunas). O conjunto de 4608 pontos é depositado em duplicata nas duas metades longitudinais da lâmina. Após a deposição dos fragmentos de DNA, as lâminas foram fixadas com 50 mJ de luz UV e armazenadas em dessecador com umidade relativa em torno de 5%. A descrição completa da plataforma pode ser encontrada no banco de dados Gene Expression Omnibus (GEO) (Barrett *et al.*, 2005)(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>), com o número de acesso GPL2708.

4.3. Síntese dos cDNAs e marcação com fluoróforos

A síntese e marcação de cDNAs foram feitas utilizando os sistemas Cy-Scribe Post Labeling kit (GE Healthcare) ou Superscript Plus Indirect cDNA labeling kit (Invitrogen). A síntese do cDNA foi feita a partir de 20 µg de RNA total, utilizando oligonucleotídeos randômicos, uma mistura de nucleotídeos, amino-alil dNTPs, tampão 1x, DTT e a transcriptase reversa nas quantidades recomendadas pelo fabricante. A reação foi incubada a 42°C (CyScribe) ou a 46°C (SuperscriptIII) por 3 h. Em seguida, os RNAs foram submetidos a hidrólise alcalina e os cDNAs modificados com amino-alil dNTP foram purificados em placas de filtração Multiscreen MAFOB (Millipore). A marcação dos cDNAs é feita quando o CyDye NHS-éster reage com os grupos amino-alil incorporados no cDNA. O cDNA marcado foi purificado em placas de filtração Multiscreen MAFOB (Millipore). O fluoróforo total incorporado foi quantificado medindo-se a absorbância a 550 nm (Cy3) e a 650 nm (Cy5), a quantidade de cDNA sintetizado foi medida pela absorbância a 260 nm.

4.4. Hibridização

As hibridizações foram realizadas na presença de tampão de hibridização 25% (GE Healthcare) e formamida 50% por 16 h a 42°C. As lavagens foram feitas a 55°C em SSC 1,0x, SDS 0,2% por 10 min; SSC 0,1x, SDS 0,2% por 10 min e SSC 0,1x por 1 min. As lâminas foram secas com vapor de nitrogênio e a aquisição das imagens foi feita no Generation III Scanner (Molecular Dynamics). Foram obtidas imagens independentes para as amostras marcadas com Cy3 e Cy5, utilizando lasers de 532 nm e 633 nm, respectivamente.

4.5. Quantificação dos sinais de fluorescência

Após a obtenção das imagens de cada lâmina, as intensidades de sinal de cada ponto foram extraídas utilizando o programa Array Vision 6.0 (Image Research). Para quantificar a

intensidade de fluorescência dos pontos utilizamos a medida *Median Artifact Removed Density* (MARMDeDens) que consiste em uma medida de densidade excluindo os pixels que apresentem sinal acima ou abaixo de 4 desvios absolutos da mediana (MAD), permitindo a exclusão de pixels que apresentem poeira ou artefatos de hibridização. O sinal de fundo foi quantificado como sendo uma moldura com largura de 2 pixels em torno do ponto. A intensidade de fluorescência de cada ponto foi determinada como sendo o valor de MARMDeDens subtraindo a mediana do sinal de fundo. Pontos que apresentaram irregularidades foram marcados para exclusão nas etapas subseqüentes da análise dos dados.

4.6. Normalização dos dados

A normalização dos dados deve ser realizada para corrigir artefatos na incorporação dos fluoróforos e diferenças na intensidade de fluorescência entre Cy3 e Cy5 (Quackenbush, 2001; Yang *et al.*, 2002). Para isso, utilizou-se o método LOWESS (*LOcally WEighted regreSSsion*) para ajustar os dados de expressão gênica, assumindo como hipótese que a maioria dos genes não deve apresentar diferença entre as duas condições (Yang *et al.*, 2002). A função LOWESS está implementada no pacote estatístico R (www.r-project.org) e consiste em uma regressão linear com peso local. A normalização foi feita no espaço $M \times S$ onde $M = \log_2(\text{teste}/\text{controle})$, que é a razão entre o sinal observado na condição teste em relação à condição controle, e $S = \log_2(\text{Cy3}/2 + \text{Cy5}/2)$ que representa a média da intensidade total do ponto.

Os dados brutos e normalizados de todos os experimentos realizados foram depositados no banco de dados GEO (Gene Expression Omnibus) (Barrett *et al.*, 2005). O número de acesso dos dados de choque térmico é GSE3044.

4.7. Determinação dos genes diferencialmente expressos

Para determinar a variabilidade experimental intrínseca aos nossos experimentos de microarranjos de DNA, foram realizadas duas hibridizações homotípicas (*self-self*) independentes. Nestes experimentos, a mesma amostra de RNA controle foi utilizada para síntese de cDNA e após a marcação com os fluoróforos Cy3 e Cy5, foram hibridizadas na mesma lâmina. As hibridizações homotípicas foram utilizadas para determinar a função densidade de probabilidade, testando a hipótese nula H_0 : "não há hibridização diferencial entre as amostras teste e controle. Este procedimento resulta na determinação dos limites superior e inferior, dependentes da intensidade, da variabilidade intrínseca ao experimento e torna possível a aplicação desses limites aos experimentos reais (Vencio & Koide, 2005). Portanto, os genes que apresentam razão de expressão consistentemente acima ou abaixo desses limites são considerados diferencialmente expressos. O algoritmo utilizado está implementado em <http://blasto.iq.usp.br/~rvencio/HTself>. Após definir o limite superior e inferior para os genes não diferencialmente expressos (curvas homotípicas), outros experimentos de microarranjos, realizados nas mesmas condições técnicas que os experimentos homotípicos, foram avaliados. A curva homotípica foi ajustada utilizando os seguintes parâmetros: intervalo de credibilidade de 98%, passo 0,2 e janela 0,1. O resultado (M,S) de um determinado gene nos dados de interesse (não homotípicos) foi comparado às curvas da hibridização homotípica. Foram considerados diferencialmente expressos os genes que apresentaram 80% das réplicas com valor de M acima ou abaixo dos limites determinados pelas curvas homotípicas, com no mínimo 5 réplicas válidas nos experimentos de choque térmico e no mínimo 3 réplicas, nos experimentos de estresse osmótico. Todos os experimentos foram realizados com 3 réplicas biológicas independentes e cada gene foi depositado em duplicata nas lâminas de microarranjos. Portanto, temos no mínimo um total de 6 réplicas para cada gene. Mais detalhes sobre a metodologia podem ser encontrados na seção III.2.1.

4.8. Agrupamento dos genes de acordo com o perfil de expressão

Os genes classificados como diferencialmente expressos foram agrupados utilizando o método *K-means*, com uma medida de distância que considera a informação das medidas repetidas. O *K-means* é um algoritmo iterativo de agrupamento, onde o número de grupos é definido pelo usuário. Foram utilizados os valores da mediana das réplicas técnicas e biológicas dos dados que apresentavam a série temporal completa para evitar erros decorrentes da entrada de dados.

No *K-means*, os objetos (genes) são distribuídos de forma que os grupos sejam internamente similares, mas externamente dissimilares. Inicialmente, os objetos são distribuídos ao acaso em um dos grupos e então é calculado um vetor de expressão para cada grupo. O algoritmo minimiza a soma das distâncias de cada objeto ao seu vetor de expressão correspondente. Em cada iteração, cada gene é designado ao vetor de expressão mais próximo, e novos vetores são computados. Esses passos são repetidos até que não haja mais movimentação dos genes entre os diferentes grupos.

A medida de distância utilizada é análoga à distância euclideana, ponderada pelo desvio padrão. Para descobrir o número de grupos a ser considerado no *K-means*, aplicou-se a análise de componentes principais (PCA) (van der Werf *et al.*, 2006). Quando as diferenças entre as componentes principais sucessivas caíam para próximo de zero, o valor da componente principal foi utilizado como o número de grupos.

4.9. Determinação das categorias funcionais altamente representadas

Para encontrar as categorias funcionais altamente representadas na análise de agrupamento, utilizou-se a ferramenta denominada BayGO (<http://blasto.iq.usp.br/~tkoide/BayGO/>) (Vencio *et al.*, 2006). O programa resume os dados apresentando o número de genes em cada categoria funcional e calcula a medida de

associação entre “ser diferencialmente expresso” e “pertencer a uma dada categoria funcional”. Esta medida de associação, denominada G , é calculada como descrito por Goodman e Kruskal (Goodman & Kruskal, 1954). Para determinar a significância estatística de uma dada associação, ela é comparada com a associação G^* , obtida a partir de listas de genes simuladas ao acaso. Uma categoria foi considerada como altamente representada se o valor da probabilidade $P = Pr (G^* > G)$ for menor que 0,05. Mais detalhes sobre a metodologia podem ser encontrados na seção III.2.2.

5. RT-PCR quantitativo

Foram desenhados oligonucleotídeos específicos para genes selecionados utilizando o programa Primer Express 2.0 (Applied Biosystems). Este programa otimiza o desenho dos oligonucleotídeos para a reação de RT-PCR quantitativo, considerando que o produto de PCR deve ter entre 50 e 150 pb e sua temperatura de dissociação deve ser em torno de 80°C. 5 µg de RNA total foram utilizados para produzir cDNAs utilizando 200 U de transcriptase reversa SuperscriptII (Invitrogen) e 500 ng de primers randômicos. O cDNA foi diluído em água DEPC para a concentração final de 35 ng/µl. A reação de PCR quantitativa foi feita utilizando 180 ng de cDNA como molde, 800 nM de primers direto e reverso e 10 µl de Platinum SYBR Green qPCR SuperMix UDG (Invitrogen) ou 10 µl de Sybr Green PCR Master Mix (Applied Biosystems) em um sistema ABI PRISM 5700 Sequence Detection System (Applied Biosystems). Foram utilizados os parâmetros padrão do equipamento e, após completar a reação de PCR, foi feita uma curva de dissociação do produto de PCR para assegurar a especificidade da reação. A ORF XF2157 (*dnaQ*) foi utilizada para normalizar a quantidade de cDNA para cada uma das amostras, já que diferentes experimentos de microarranjos de DNA mostraram que a expressão desta ORF não era alterada em nenhuma das condições de estudo. O valor da razão de cada uma das ORFs testadas foi calculada utilizando o método 2^{-C_t}

$\Delta\Delta CT$ (Livak & Schmittgen, 2001). Foram realizados três experimentos independentes. Os oligonucleotídeos utilizados estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1: Oligonucleotídeos utilizados nos experimentos de RT-PCR quantitativo

Gene	Nome	Oligo direto (5'-3')	Oligo reverso (5'-3')
XF0263	<i>cvaC</i>	TCGGCGTTTCTGCCTTTTT	CCACCGCGGGTTCCA
XF0264	<i>cvaC</i>	GCGACTTTGCTACGCGTCTT	CAGCAAAAAAGCAGCAATGC
XF0371	<i>pilO</i>	GCATCTTGGTCGGCTTTTTTA	GCTCGCGCTCTTACCTTCA
XF0390	<i>phoQ</i>	TCTTGCGCGATGGATCATT	GCCGGGCACATCAAAGTG
XF0395	<i>bfr</i>	TGGATGGTTTGCCGAATTTT	TGCCAAATCGCCACTGAATA
XF0975	<i>oprO</i>	GGTGCTGGAACGTCCACAGT	GGTTGTCGCCTTGTAGATCTTTG
XF1220	<i>cvaB</i>	TCACTGGCATAGCGCTTGAA	TGAAATTGAAGGCGGTGGTT
XF1493	<i>xrvA</i>	TGCTTACCCACAGTGGTGAA	CCTTCCCATGCAGCAAATG
XF1632	<i>pilU</i>	AGCGCGAGGAATTCGAGAA	GCGGAAGCGACCAATGTT
XF1896	<i>pal</i>	GCTTCGTGCGGACAGTTGA	CTTTCTGTTGATTAGTGCAAACC
XF1915	<i>trpG</i>	GCCATATCGAGTCATCGTCGTA	CCGAGCTGCTCAAATATGAGA
XF2157	<i>dnaQ</i>	GGTGCCGAAGTATTATTCACA	CAACCGCGATAACTCGTAATCAA
XF2174	<i>ybbN</i>	CGCTCGCTGATTCCGATTT	TTGATCTTCGCCAGCTCAAA
XF2241	<i>mucD</i>	TCATCGGTAGCGACGAACAG	ACGCACGGTGGGTAGATTTT
XF2336	<i>colR</i>	CGCAACATCTCGGAGATGATC	CCATCGACGGCATAATCCA
XF2340	<i>dnaK</i>	AGCGCGCTAAAATCGAATTGT	TGCATCCGCCGTAATGTATG
XF2395	<i>axeA</i>	GCACGTCAACCTGCATTGG	TGGGTCTGGCTGTGGTTACC
XFa0052	<i>vapD</i>	TTGTCGGACGATTTCAATGC	TCGACGCTCAAAGCTTCTCT

6. Ensaio de Extensão de Oligonucleotídeo

Para determinar o início de transcrição de 6 genes induzidos no choque térmico (XF2340-*dnaK*, XF2341-*grpE*, XF0616-*groES*, XF0381-*clpB*, XF2234-*hspA* e XF2625-*htpX*), foram desenhados oligonucleotídeos próximos ao ATG da ORF de interesse correspondendo à fita complementar, mostrados na Tabela 2. 50 pmoles de cada oligonucleotídeo foram marcados radioativamente na extremidade 5' com $\gamma^{32}P$ ATP (30 μ Ci), numa reação utilizando

5 U de T4 Polinucleotídeo Quinase (New England Biolabs). Após quantificar a incorporação do radioativo, foram precipitados aproximadamente 10^6 cpm de oligonucleotídeo e 50 μ g de RNA total com acetato de sódio e etanol em gelo seco por 30 min. As amostras foram centrifugadas por 30 min a 12.000xg, secas sob vácuo e em seguida ressuspensas em 25 μ l de tampão de hibridização (PIPES 100 mM pH 7.0, NaCl 1 M, EDTA 5 mM). A desnaturação foi feita por 10 min a 100°C e a hibridização a 50°C por 16 h. Os ácidos nucleicos foram precipitados com etanol 100% em gelo seco por 30 min e lavados com etanol 70%. A extensão do oligonucleotídeo foi feita utilizando 200 U de transcriptase reversa SuperscriptII (Invitrogen), DTT 1 mM, 10 U de inibidor de RNases RNaseOUT (Invitrogen) e 1 mM de cada dNTP. A reação foi incubada por 90 min a 42°C e, em seguida, o RNA foi eliminado pela adição de 30 μ g de RNaseA e incubação a 37°C por 30 min. O material foi purificado por extração com fenol:clorofórmio (1:1) e precipitado com 3 volumes de etanol absoluto em gelo seco por 30 min. Após centrifugação (12.000xg, 4°C) e lavagem (etanol 70%), as amostras foram secas e solubilizadas em 2 μ l de água e 4 μ l de tampão de amostra (formamida 95%, EDTA 20 mM, azul de bromofenol 0,05% e xileno cianol 0,05%). As amostras foram aquecidas a 94°C por 3 min e aplicadas em gel de eletroforese contendo 7,5% de poliacrilamida – 7 M uréia

Para determinar o tamanho do produto de extensão obtido e conseqüentemente, o início de transcrição da ORF, o produto do seqüenciamento do fago M13 foi utilizado como referência de tamanho molecular. A reação de seqüenciamento foi obtida por PCR utilizando o oligonucleotídeo -40 M13 (Tabela 2) e DNA fita simples do fago, utilizando o sistema *fmol* DNA Cycle Sequencing System (Promega), conforme as instruções do fabricante.

Tabela 2: Oligonucleotídeos utilizados nos ensaios de extensão de oligonucleotídeo

Gene	Nome	Oligonucleotídeo (5'-3')
XF0381	<i>clpB</i>	GTAAGCTTATCCATCCGC
XF0616	<i>groES</i>	GATCATGAAGCGGTTTGA
XF2340	<i>dnaK</i>	AGGTCGATACCAATGATT
XF2341	<i>grpE</i>	CATTCGGGGTGGTCTTGA
XF2625	<i>htpX</i>	GGCAAACAAGACAATACG
XF2234	<i>hspA</i>	CCAAGGGGTATAACGAAC
-40 M13		GTTTTCCCAGTCACGAC

7. Busca *in silico* por promotores dependentes de σ^{32}

Com base na informação gerada a partir dos ensaios de extensão de oligonucleotídeo que permitiu determinar 6 prováveis promotores dependentes de σ^{32} , foram construídas matrizes com a frequência (porcentagem) de cada nucleotídeo em cada posição das regiões -35 e -10. Estas matrizes foram utilizadas separadamente para buscar prováveis seqüências promotoras na região 5' dos genes classificados como induzidos durante o choque térmico (região -200 a -1) com o programa PATSER (van Helden, 2003), com parâmetros padrão. Foi feito um programa na linguagem R (<http://www.r-project.org/>) para incorporar as saídas do programa para as regiões -35 e -10 e o espaçamento entre elas. Para avaliar se a lista de prováveis promotores era estatisticamente significativa, calculou-se a probabilidade P de que a proporção de prováveis promotores dependentes de σ^{32} encontrados entre os genes não-induzidos fosse maior do que a proporção encontrada entre os genes induzidos por choque térmico, como função da pontuação dada pelo programa PATSER. Quando mais de uma seqüência promotora foi predita para o mesmo gene, escolheu-se aquela com maior pontuação.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Construção dos microarranjos de DNA de *Xylella fastidiosa*

A construção dos microarranjos de *Xylella fastidiosa* foi baseada na amplificação de fragmentos específicos de DNA para cada uma das ORFs anotadas no genoma da cepa 9a5c (Simpson *et al.*, 2000). Foram utilizados 2577 pares de oligonucleotídeos ORF-específicos para a produção de fragmentos de DNA dupla fita com tamanho entre 250 e 800 pb. Esses produtos de PCR foram avaliados por eletroforese em gel de agarose (Figura 3A), onde foi constatada falha em 15% das reações. A primeira versão do microarranjo de *X. fastidiosa* contendo 2572 fragmentos de ORFs amplificadas está depositada banco de dados GEO sob número de acesso GPL3409. Em seguida, 355 novos pares de oligonucleotídeos foram desenhados e sintetizados pela Operon Technologies. As amplificações deste lote de oligonucleotídeos apresentaram falha em somente 3% das reações (Figura 3B). Esses produtos de PCR foram imobilizados em lâminas de vidro juntamente com os 2572 fragmentos obtidos na versão 1. Com isso, obtivemos a versão 2 do microarranjo de *X. fastidiosa* contendo fragmentos internos de 2692 ORFs (Figura 4) que representam 94,6% do genoma de *X. fastidiosa*. Esta versão foi utilizada na maioria dos experimentos de resposta a estresse e está disponível no banco de dados GEO sob número de acesso GPL2708.

Os microarranjos de DNA de *X. fastidiosa* foram utilizados com sucesso em um estudo de genômica comparativa entre a cepa patogênica 9a5c e a cepa não patogênica J1a12 (Koide *et al.*, 2004). Neste trabalho, foram feitas hibridizações competitivas que permitiram determinar conjuntos de genes ausentes ou altamente divergentes na cepa J1a12. Foi verificada a ausência do gene codificando a arginase em J1a12, que pode estar relacionada com a incapacidade da cepa se multiplicar nas plantas hospedeiras. Em *Helicobacter pylori*, esta enzima parece estar relacionada com a sobrevivência da bactéria nas células hospedeiras, por provocar a diminuição da produção de óxido nítrico pelo hospedeiro. Observou-se

também a falta do gene codificando um precursor da adesina da fímbria, que pode estar associada com o fenótipo menos agregado da cepa J1a12 crescendo *in vitro* (Koide *et al.*, 2004). Este estudo foi o primeiro a comparar uma cepa patogênica com outra não-patogênica de *X. fastidiosa*, sendo um importante passo para a compreensão dos mecanismos moleculares da doença CVC.

Esta ferramenta também tem sido utilizada por outros grupos no estudo de *X. fastidiosa*: estudo do crescimento em diferentes concentrações de glicose, revelando a expressão aumentada de colicinas V (Pashalidis *et al.*, 2005), estudos do metabolismo de ferro (desenvolvidos por Paulo Zaini e Aline Maria da Silva), resistência a peptídeos antimicrobianos (desenvolvidos por Andréa Fogaça e Aline Maria da Silva) e no estudo de mutantes de fatores sigma de *X. fastidiosa* (desenvolvidos por José Freire da Silva Neto, Tie Koide, Suely Lopes Gomes e Marilis do Vale Marques).

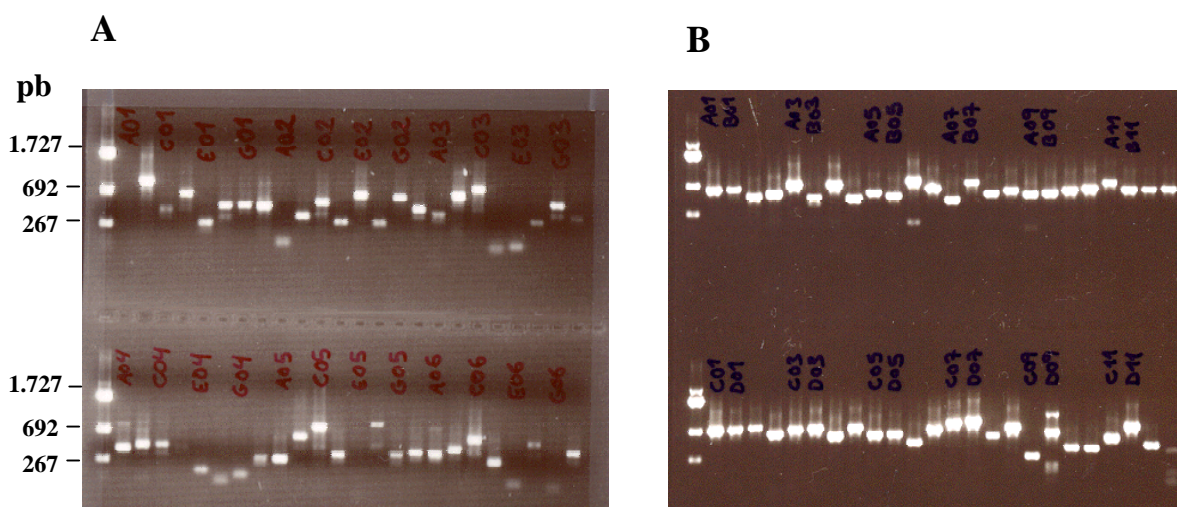


Figura 3: Eletroforese em gel de agarose (1,2%) dos produtos de PCR depositados na lâmina. A figura mostra a foto do gel corado com brometo de etídeo. A primeira canaleta à esquerda corresponde ao marcador de tamanho molecular. (A) Rendimento médio obtido com o primeiro lote de primers (~15% de falha). (B) À direita, o rendimento médio obtido com os primers da marca Operon (~3% de falha).

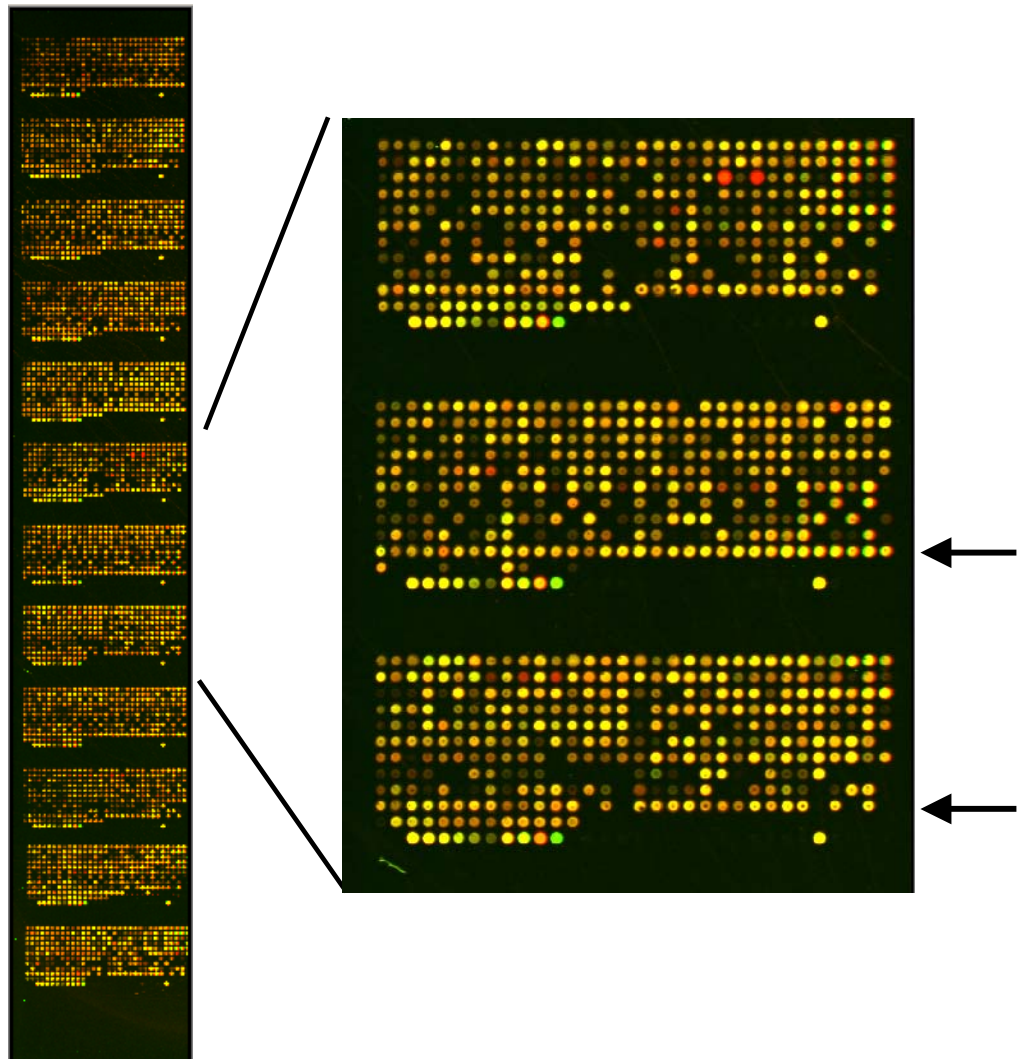


Figura 4: Imagem bicolor de uma lâmina de microarranjo de DNA contendo 2694 fragmentos ORF-específicos. Esta lâmina foi hibridizada manualmente com DNA fluorescente preparado de DNA total da cepa 9a5c (Cy3) e cepa J1a12 (Cy5). A figura mostra a porção esquerda do microarranjo com os 12 subconjuntos e uma ampliação dos subconjuntos 6 a 8. Os pontos em vermelho representam ORFs que são aparentemente ausentes na cepa J1a12. As setas à direita apontam a linha correspondente aos produtos obtidos com o segundo lote de oligonucleotídeos (10^a linha).

2. Desenvolvimento de ferramentas para análise de dados de microarranjos de DNA

A tecnologia de microarranjos de DNA tem permitido o estudo da expressão gênica em escala genômica, mudando o paradigma do estudo de expressão de um único gene para uma abordagem em larga escala. A análise dos dados provenientes destes experimentos é uma etapa complexa, e há uma grande variedade de métodos estatísticos disponíveis (Nadon & Shoemaker, 2002; Cui & Churchill, 2003; Stolovitzky, 2003).

Os microarranjos de *Xylella fastidiosa* foram os primeiros a serem desenvolvidos no Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Além dos desafios na construção da plataforma, diversas questões relacionadas à análise de dados dos microarranjos de DNA levaram ao desenvolvimento de algumas ferramentas de análise. Neste capítulo, serão descritas três ferramentas desenvolvidas em conjunto com o doutorando Ricardo Vêncio do Programa Interunidades de Doutorado em Bioinformática da USP. A primeira ferramenta descrita é chamada *HTself* e tem sido utilizada na determinação de genes diferencialmente expressos, principalmente em estudos em que há poucas réplicas disponíveis. (Vencio & Koide, 2005). A segunda ferramenta é chamada *BayGO*, onde foi implementada uma abordagem bayesiana para a análise de termos ou categorias funcionais altamente representadas dentre os genes de interesse (Vencio *et al.*, 2006). A última ferramenta é chamada *SpotWhatR*, e consiste em uma plataforma que integra programas utilizados nas diversas etapas da análise e pré-processamento de dados de microarranjos com uma interface de fácil utilização por pessoas que não estão habituadas com linguagens de programação computacional (Koide *et al.*, 2006a).

2.1. *HTself*: teste estatístico baseado em experimentos homotípicos

Nos experimentos de microarranjos de DNA, a comparação entre duas amostras marcadas com diferentes corantes fluoróforos permite a classificação de um gene como diferencialmente expresso (ou divergente, caso esteja-se lidando com hibridizações genômicas) utilizando uma grande variedade de métodos estatísticos (Nadon & Shoemaker, 2002; Cui & Churchill, 2003; Stolovitzky, 2003). Num desenho experimental ideal, deve-se obter dados provenientes do máximo número possível de réplicas técnicas e biológicas, de modo que o dado seja representativo e possa ser analisado com as ferramentas estatísticas disponíveis. Entretanto, nem sempre é possível satisfazer essa necessidade de réplicas nas situações experimentais reais que se apresentam ao pesquisador.

Em laboratórios com restrições financeiras, por exemplo, os microarranjos são utilizados principalmente como ferramentas de varredura em larga escala para a seleção de alguns poucos genes de interesse. Nestes casos, a prática mostra que é preferível realizar experimentos com poucas réplicas experimentais e testar mais condições biológicas diferentes. Outro exemplo é o estudo de doenças raras em humanos, naturalmente sujeito à restrição de amostras, uma vez que o RNA disponível provém de dois ou três pacientes apenas. Apesar do número de réplicas não ser o ideal, esses estudos são indubitavelmente importantes. No entanto, estes dados não são analisados de forma adequada quando se utiliza os métodos estatísticos tradicionais ou os métodos no estado-da-arte, que requerem um número superior de réplicas e/ou assumem certas hipóteses sobre as distribuições de probabilidades envolvidas, as quais não podem ser verificadas.

O programa *HTself* foi implementado como uma ferramenta bioinformática de fácil utilização para a análise de microarranjos restritos a poucas réplicas experimentais. Para isso, foram exploradas duas idéias amplamente aceitas na análise de dados de microarranjos, mas que até então nunca haviam sido utilizadas em conjunto: a determinação de cortes críticos dependentes da intensidade usando experimentos controle conhecidos como homotípicos

(Kim *et al.*, 2002; Tu *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2002) e o uso de métodos não-paramétricos (Tusher *et al.*, 2001; Troyanskaya *et al.*, 2002; Zhao & Pan, 2003). O sistema implementado chamado de *HTself*, está gratuitamente disponível na Internet e faz as análises num servidor hospedado no endereço: <http://blasto.iq.usp.br/~rvencio/HTself>.

Na análise de dados de microarranjos, uma questão fundamental é como classificar um gene como sendo diferencialmente expresso. Para isso, é necessário determinar um valor crítico de corte para a razão de hibridização. Em termos matemáticos, este passo consiste em testar a hipótese nula H_0 : “o ponto não apresenta hibridização diferencial entre as duas amostras testadas”.

Existem várias abordagens matemáticas para definir os valores críticos de corte e rejeitar H_0 , que podem ser detalhadamente vistos em revisões recentes (Nadon & Shoemaker, 2002; Cui & Churchill, 2003; Stolovitzky, 2003). Uma estratégia muito simples e ainda amplamente utilizada consiste em escolher uma razão arbitrária, como por exemplo, 2 vezes. Genes com razão de hibridização maior que o valor crítico de corte são considerados como tendo expressão diferencial. Para incorporar algum rigor estatístico, costuma-se também utilizar os testes estatísticos tradicionais como o teste t , usando transformações logarítmicas sobre as razões (mais conhecido por *log-ratios*, em inglês) e um valor arbitrário de corte para a média. Matematicamente, H_0 : “média do log da razão é maior que logaritmo do valor crítico de corte”. Este esquema fornece algum tipo de significância estatística ao resultado através de um p -valor do teste, mesmo que o valor crítico de corte seja um valor arbitrário. Entretanto, para ser adequadamente aplicado, é necessário verificar se os valores de log da razão para um dado gene são de fato distribuídos segundo uma normal e se o número de observações experimentais não é muito pequeno.

Outra abordagem comum consiste em assumir um modelo estatístico para o comportamento de toda a lâmina (usualmente uma distribuição normal), definir este como sendo a função Densidade de Probabilidade (DP) nula do teste, e procurar pelos extremos

(*outliers*) (Nadon & Shoemaker, 2002; Cui & Churchill, 2003; Stolovitzky, 2003). Novamente, esta estratégia exige que o dado seja distribuído de acordo com algum modelo conhecido.

Como os modelos assumidos nem sempre são adequados para os dados de microarranjos, diferentes métodos não-paramétricos foram propostos para definir a DP nula para os valores de log da razão de um gene (Tusher *et al.*, 2001; Troyanskaya *et al.*, 2002; Zhao & Pan, 2003). Entretanto, uma vez que estes métodos são usualmente baseados em re-amostragem (*bootstrap*), permutação, estimativas de desvio padrão, estatísticas de rank/ordem, etc., eles podem não ser boas escolhas para a obtenção da DP de genes individuais quando existem poucas réplicas experimentais.

Uma categoria de abordagem completamente diferente para definir os valores críticos de corte baseia-se em estratégias experimentais como o uso de hibridizações homotípicas (*self-self*). Nos experimentos homotípicos, o mesmo material biológico é marcado separadamente com os fluoróforos Cy3 e Cy5 e as duas amostras hibridizadas simultaneamente na mesma lâmina. Esta estratégia tem sido utilizada para obter valores de corte dependentes da intensidade para classificação de genes como diferencialmente expressos. A comparação entre o uso de valores de corte que são constantes e o uso de cortes dependentes da intensidade já foi extensivamente discutida, mostrando um desempenho superior deste último (Tu *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2002).

Por “dependente da intensidade” entendemos que o valor crítico de corte definido é diferente em função da intensidade do ponto definida por A ($A = \log_2(\text{Cy3})/2 + \log_2(\text{Cy5})/2$). A Figura 5 mostra um exemplo do resultado de um experimento homotípico num gráfico M versus A .

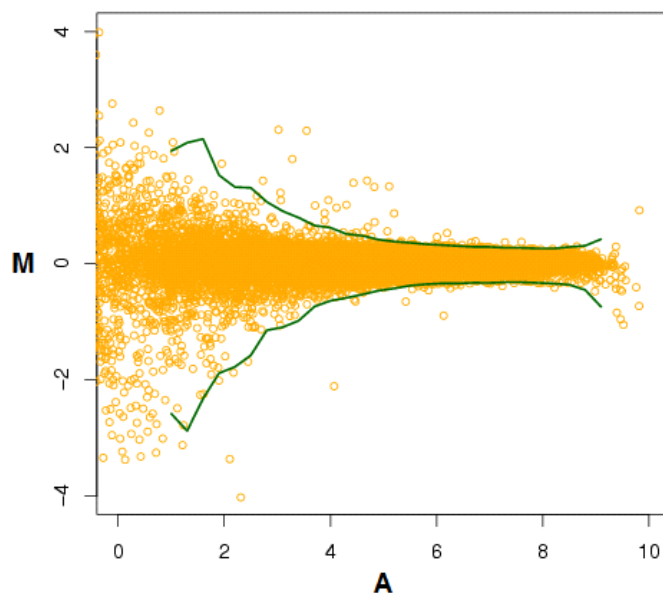


Figura 5: Experimento homotípico utilizando o microarranjo de DNA de *Xylella fastidiosa*, os cDNAs marcados foram sintetizados a partir de RNA extraído após crescimento por 7 dias a 29°C. $M = \log_2(Cy5 / Cy3)$, $A = \log_2(Cy3)/2 + \log_2(Cy5)/2$, Cy3 e Cy5 são as intensidades dos dois fluoróforos. Pode-se notar que, conforme esperado uma vez que o mesmo material foi marcado com cada um dos fluoróforos, as observações de M se distribuem em torno de $M = 0$. Também é possível notar que a dispersão de M aumenta para os valores menores A , ou seja, existe uma dependência com a intensidade média. A curva verde é o corte dinâmico de 99,5% de credibilidade.

O método implementado no sistema *HTself* usa experimentos homotípicos para obter experimentalmente a DP nula do teste estatístico. Uma vez que a hipótese nula “não existe hibridização diferencial entre as duas amostras” vale, por construção, para todos os genes em experimentos homotípicos, é possível escapar do paradigma gene-a-gene e usar todos os pontos de todos os genes imobilizados na lâmina para estimar a DP nula. Sendo assim, com um número adequado de observações (todos os pontos da lâmina), o uso de métodos não paramétricos é factível. Para levar em conta a dependência da variabilidade com a

intensidade, a DP nula é estimada usando um processo de janela-deslizante que se desloca por todo o espectro de intensidades medidas.

O algoritmo para definir valores de corte críticos dos log das razões de uma forma dependente da intensidade é, resumidamente:

1. o usuário define uma janela-deslizante para o eixo A definindo dois parâmetros: o tamanho da janela e o passo do deslocamento. Em cada passo será destacado então um subintervalo arbitrário de A ;
2. para cada subintervalo de A selecionado em (i), estima-se a DP de M usando o método de *Kernel Density Estimator*;
3. integra-se a DP de (ii) em torno da moda da densidade até que algum nível de probabilidade, pré-definido pelo usuário, seja atingido;
4. as etapas (ii) e (iii) são repetidas até que a janela tenha deslizado por todo o espectro de A .

A Figura 6 mostra um exemplo de intervalos interceptados no processo de criação das curvas de corte para os valores de log da razão M . Este exemplo foi criado com os dados homotípicos obtidos num estudo com a bactéria *X. fastidiosa* (Koide *et al.*, 2004).

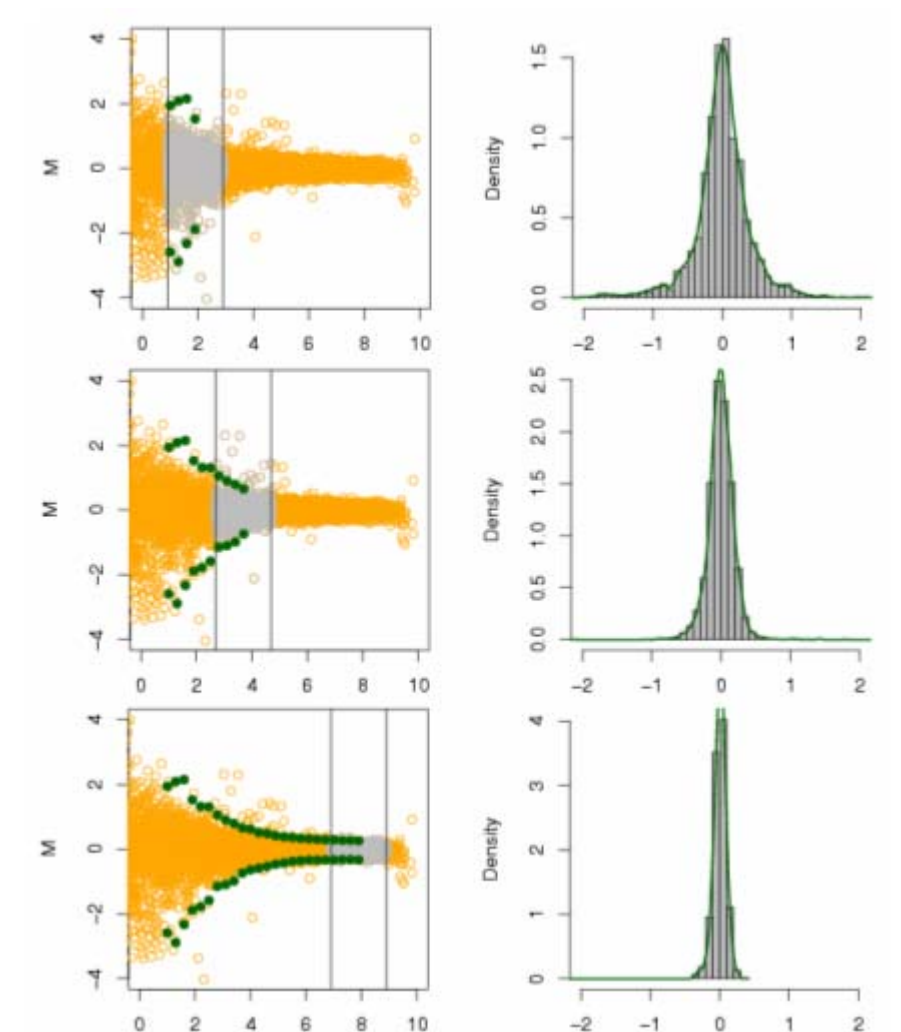


Figura 6: Intercepção de intervalos durante a execução do algoritmo do *HTself*. Os gráficos à esquerda são os gráficos *MxA* do experimento homotópico e os gráficos à direita são os histogramas da distribuição dos log das razões *M*, referentes aos subintervalos de *A* demarcados pelas linhas verticais nos respectivos gráficos *MxA*. O método *Kernel Density Estimator* é usado sobre os histogramas de *M* para se obter empiricamente sua função densidade de probabilidade (DP, linhas verde nos gráficos à direita). Com esta, obtém-se os intervalos de credibilidade desejados (linhas verticais nos gráficos à direita) integrando-se desde a moda da DP até atingir-se a probabilidade desejada. Neste exemplo a integração pára ao atingir a probabilidade de 0,995. Os intervalos de credibilidade em *M* assim definidos são transportados ao gráfico *MxA* (pontos verdes nos gráficos da esquerda) e conjuntamente formam o valor de corte crítico (como as curvas verdes na figura 5)

A técnica *Kernel Density Estimator* é uma técnica não-paramétrica que estima a função densidade de probabilidade de uma variável empiricamente, com base em amostras observadas (Silverman, 1986). Para ganhar intuição sobre esta técnica, basta notar que um simples e conhecido histograma é um caso particular deste formalismo. Ela pode ser interpretada intuitivamente como se fosse um processo de suavização de um histograma, utilizada para gerar as curvas DP de M em cada um dos subintervalos (Figura 6, curvas verdes gráficos da direita) com as observações M_i adequadas.

Uma vez definido o valor crítico de corte, basta aplicá-lo aos experimentos de interesse, ou seja, experimentos com duas amostras sendo comparadas e não mais os controles homotípicos. Neste raciocínio, assume-se implicitamente que o mesmo processo estocástico que gera o ruído experimental nos ensaios homotípicos ocorre nos ensaios de interesse. Por exemplo, suponha que num experimento real, os valores (a, m) observados de um dado ponto mostrem valores de log da razão m para fora de um valor crítico de corte de 99% de credibilidade. Este ponto pode então ser classificado pelo usuário do método como sendo diferencialmente expresso, uma vez que há somente $(100-99)\% = 1\%$ de chance que esta medida de log da razão seja produto de ruído experimental. Se o gene em questão possui mais de um ponto relativo a ele ou se existe mais de uma réplica do experimento, o usuário pode decidir se irá considerar o gene como diferencialmente expresso ou não, com base em propriedades como porcentagem de observações acima/a baixo do valor crítico de corte, log das razões médio, etc.

Como o método é aplicado a cada ponto de forma individual, ele não depende necessariamente de um grande número de réplicas experimentais para chegar a decisão de que o gene é diferencialmente expresso ou não, podendo ser aplicado até mesmo a casos limite em que há uma única observação (1 ponto para detectar um único gene em 1 único experimento) disponível.

O sistema é composto por uma interface amigável e simples com o usuário, por meio de um *website*. A Figura 7 mostra um exemplo da interface do sistema implementado. Após a aplicação das curvas homotípicas aos dados de interesse, a saída do programa consiste em tabelas contendo informações sobre o número total de pontos, porcentagem de pontos acima / abaixo / dentro dos valores determinados pelas curvas homotípicas, média dos valores de log da razão, desvios, dentre outros. Desta forma, espera-se que o usuário possa decidir, com base nestas informações, os critérios para classificar um gene como diferencialmente exposto.

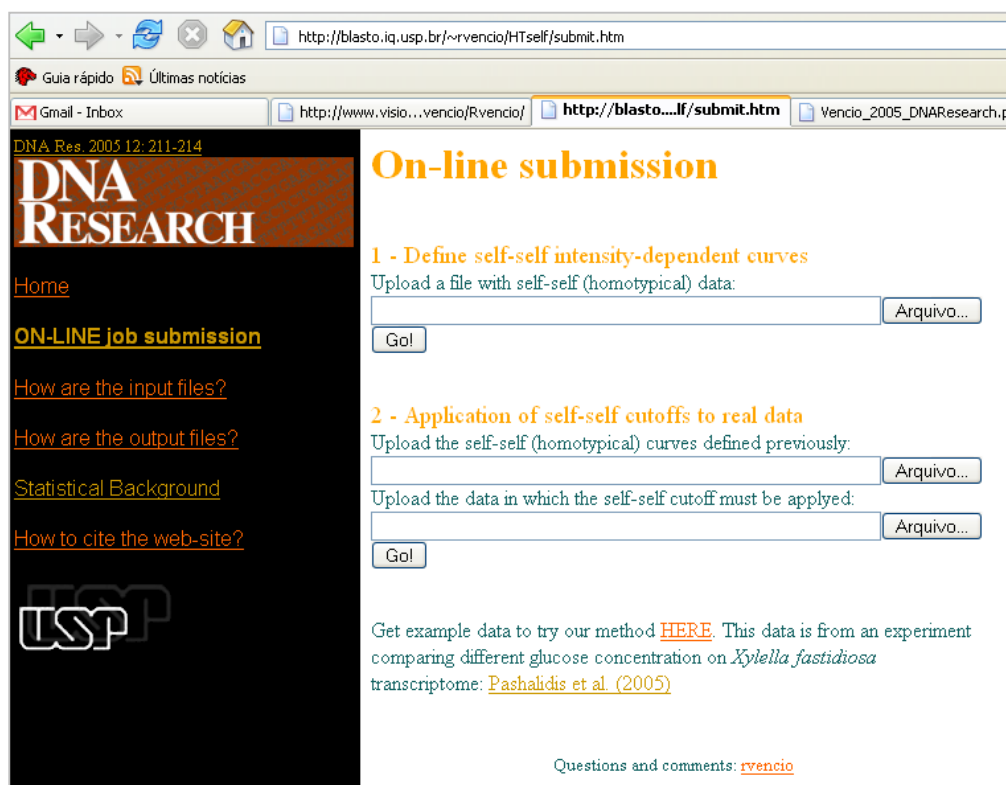


Figura 7: Interface *web* para utilização do método *HTself*. Uma interface amigável disponibiliza o método para qualquer usuário, que pode decidir quais genes serão considerados como relevantes em seu estudo, com base nos indicadores de desempenho dos pontos em relação aos experimentos homotípicos.

Com este sistema, pretende-se auxiliar os pesquisadores a extrair informações importantes contidas em seus conjuntos de dados. Esta metodologia foi empregada com sucesso nos dados de transcriptoma da bactéria *Xylella fastidiosa*, apresentados na seção III.3.

2.2. BayGO: análise bayesiana de termos de ontologia enriquecidos em dados de microarranjos de DNA.

A busca por categorias funcionais altamente representadas em uma lista de genes de interesse é uma abordagem cada vez mais utilizada nas análises de dados de microarranjos de DNA (Cavalieri & De Filippo, 2005; Yue & Reisdorf, 2005). Esta abordagem procura resumir a informação biológica proveniente de uma grande quantidade de dados, auxiliando o pesquisador a encontrar as conexões entre vias metabólicas e outros processos biológicos, de forma a construir hipóteses a partir dos dados experimentais.

Geralmente, as categorias funcionais altamente representadas são definidas a partir de testes onde é verificado se uma dada categoria está presente na lista de genes selecionados, mais do que seria esperado ao acaso. As categorias funcionais ou termos utilizados geralmente provém de sistemas de classificação próprios para cada organismo ou sistemas mais gerais e padronizados como os do *Gene Ontology Consortium* (GO) (Ashburner *et al.*, 2000) ou do banco de dados KEGG (Kanehisa & Goto, 2000). Existem diversos pacotes computacionais que abordam a questão do enriquecimento de termos ou categorias funcionais, como por exemplo, os listados na página web do Gene Ontology (GOA@EBI home page); recentemente, mais de dez ferramentas foram comparadas em uma revisão de diversas metodologias (Khatri & Draghici, 2005).

Todos estes programas disponíveis são baseados em testes de hipóteses. Entretanto, para definir as categorias mais representadas, é também possível utilizar medidas de associação estatística como uma alternativa ou complemento à significância dos testes de hipótese. As contribuições originais implementadas na ferramenta *BayGO* são: a

disponibilização de um programa que mede a associação estatística entre a expressão diferencial de genes e um dado termo de classificação funcional e a apresentação de um modelo estatístico para o problema de enriquecimento de categorias funcionais que leva em conta o fato de que, na maioria das vezes, nem todos os genes de uma dada categoria são de fato observados. Utilizando a ferramenta *BayGO*, é possível ter uma visão mais ampla dos processos que estão envolvidos em resposta a um determinado tratamento, para depois focalizar nos genes individuais. A ferramenta e o material suplementar estão disponíveis no sítio: <http://blast0.iq.usp.br/~tkoide/BayGO>.

A base de funcionamento do *BayGO* é a medida da associação estatística entre o gene estar diferencialmente expresso e pertencer a uma dada classe funcional. Uma medida de associação bastante conhecida entre os biólogos é a correlação. Uma medida de associação análoga à correlação, porém mais adequada para a aplicação em tabelas de contingência, é o fator *gamma* de Goodman-Kruskal (Goodman & Kruskal, 1954), que vem sendo utilizada desde a década de 50 em diversas áreas do conhecimento. Essa medida foi utilizada para analisar a associação estatística entre as categorias funcionais e a expressão gênica diferencial. A tabela de contingência utilizada é, para uma categoria qualquer *i*, construída como:

	<i>i-j</i>	<i>ij</i>	<i>j-i</i>
Diferencialmente expressos	X_{i-j}	X_{ij}	X_{j-i}
Não-diferencialmente expressos	$N_{i-j} - X_{i-j}$	$N_{ij} - X_{ij}$	$N_{j-i} - X_{j-i}$

Note que um mesmo gene pode ser classificado em mais de uma categoria, no caso *i* e/ou *j*. X_{i-j} é o número de genes diferencialmente expressos exclusivos da categoria *i*; N_{i-j} é o número total de genes que são exclusivos da categoria *i*; X_{ij} é o número de genes diferencialmente expressos que pertencem a intersecção *i* e *j*, N_{ij} é o número total de genes que pertencem a intersecção *i* e *j*; X_{j-i} é o número de genes diferencialmente expressos que não estão relacionados à categoria *i* (ou seja, exclusivos da categoria *j*); N_{j-i} é o número total de genes que não estão relacionados à categoria *i* (ou seja, exclusivos da categoria *j*). Um dado

gene deve ser contado em somente um dos casos e a soma em N deve totalizar o número de genes considerados. A medida de associação utilizada é dada por:

$$G = (p - q)/(p + q)$$

onde $p = X_{i,j}(N_{ij} - X_{ij} + N_{j,i} - X_{j,i}) + X_{ij}(N_{j,i} - X_{j,i})$ and $q = X_{j,i}(N_{ij} - X_{ij} + N_{i,j} - X_{i,j}) + X_{ij}(N_{i,j} - X_{i,j})$.

Valores de G próximos de 1 indicam que a propriedade descrita pelo termo em questão pode ter um importante papel no fenômeno estudado.

Para saber se um valor de associação medido é significativo ou não, ele é comparado com o obtido de uma tabela semelhante à acima, mas com uma lista de genes diferencialmente expressos, escolhidos aleatoriamente e simulados. Quando a probabilidade da associação obtida aleatoriamente for menor que a associação realmente medida nos dados, ou seja, for muito pequena (por exemplo, $P < 0,05$), a associação medida é considerada significativa e a categoria funcional em questão é considerada altamente representada.

A maioria dos aplicativos existentes que lidam com o problema de achar categorias altamente representadas em dados de microarranjos costuma utilizar somente a análise de significância. Neste trabalho, foi introduzido o uso de uma medida de associação entre pertencer a uma classificação funcional e o fato de ser diferencialmente expresso, além da utilização da significância.

Outra contribuição relevante do trabalho é o modelo que leva em conta os genes que não foram observados nos experimentos. Um dado gene pode não ter sido detectado por diversos motivos: não foi imobilizado na lâmina, não passou nos critérios estatísticos estabelecidos a respeito da reprodutibilidade ou intensidade do ponto, etc.. A abordagem bayesiana permite a incorporação de informações *a priori* em relação ao tamanho conhecido de cada conjunto de genes associados a um dado termo de classificação funcional, permitindo estimar um intervalo de credibilidade para a medida de associação e estimar o comportamento de uma população finita com base em uma amostra, assim como é feito em uma pesquisa eleitoral, por exemplo.

Para testar a ferramenta *BayGO*, foram utilizados dados de microarranjos de DNA de *Xylella fastidiosa* submetida a choque térmico a 40°C por 25 minutos. O choque térmico é um estresse que causa uma resposta biológica bastante conservada. Os dados completos estão disponíveis no banco de dados GEO sob o número de acesso GSE3044. As análises dos dados de microarranjos foram feitas conforme descrito em Materiais e Métodos. As informações sobre as vias metabólicas foram obtidas a partir do banco de dados KEGG e as informações sobre a classificação utilizando o *Gene Ontology* a partir da página GOA@EBI.

Os resultados mostrados foram comparados com os obtidos a partir do programa GeneMerge. É importante ressaltar que existem diversas comparações possíveis, dependendo dos parâmetros utilizados nos programas. Em relação às vias do banco de dados KEGG, as categorias mais representadas de acordo com o programa GeneMerge foram: *Dobramento de proteínas e processamentos associados* e *Dobramento, Degradação*. De acordo com o método bayesiano: *Dobramento de proteínas e processamentos associados* e *Dobramento, Degradação e Processamento de Informações Genéticas*, o que é compatível com o que se sabe sobre a resposta ao choque térmico em bactérias. Considerando a classificação do *Gene Ontology*, os termos significativos estão mostrados na Tabela 3. É possível observar que um conjunto mais numeroso de termos foi encontrado pela metodologia *BayGO* em comparação com a abordagem do GeneMerge, que encontrou 4 termos altamente representados, indicados com um asterisco na Tabela 3.

Tabela 3: Termos do *Gene Ontology* (GO) considerados altamente representados pelo método BayGO. Os termos do GO marcados com um asterisco são os que foram considerados significantes pelo programa GeneMerge. G é o valor gamma de associação estatística e $G_{90\%}$ é o intervalo de credibilidade para G (barra de erro)

ID	Descrição	P	G	$G_{90\%}$
GO:0006986	Resposta a proteínas desnaturadas *	0,000	1,00	[0,95; 1,00]
GO:0006457	Dobramento de proteínas *	0,000	0,86	[0,76; 0,91]
GO:0051082	Ligação a proteínas desnaturadas *	0,000	0,83	[0,74; 0,88]
GO:0004252	Atividade de endopeptidase do tipo serina	0,005	0,85	[0,69; 0,94]
GO:0004222	Atividade de metaloendopeptidase	0,005	0,72	[0,56; 0,84]
GO:0005515	Ligação a proteínas *	0,010	0,80	[0,65; 0,89]
GO:0031072	Ligação a proteínas de choque térmico	0,015	0,81	[0,78; 0,84]
GO:0008233	Atividade de peptidase	0,015	0,63	[0,50; 0,81]
GO:0006508	Proteólise e peptidólise	0,020	0,59	[0,41; 0,73]
GO:0016702	Atividade de oxidoreductase	0,020	0,81	[0,78; 0,83]
GO:0004176	Atividade de peptidase dependente de ATP	0,025	1,00	[0,80; 1,00]
GO:0009377	Atividade de protease HslUV	0,025	1,00	[1,00; 1,00]
GO:0030163	Catabolismo de proteínas	0,025	0,81	[0,79; 0,84]
GO:0004295	Atividade de tripsina	0,030	1,00	[1,00; 1,00]
GO:0015969	Metabolismo de guanosina tetrafosfato	0,030	1,00	[1,00; 1,00]
GO:0019836	Hemólise	0,030	1,00	[1,00; 1,00]
GO:0006886	Transporte intracelular de proteínas	0,045	0,66	[0,62; 0,70]

É importante ressaltar que, apesar de ser muito útil, a busca por categorias funcionais mais representadas apresenta uma série de limitações intrínsecas. Uma delas é a dificuldade prática na validação experimental das conclusões obtidas através destes métodos, outra é a grande quantidade de parâmetros que pode ser modificada, desde a estrutura das ontologias ao corte em um determinado p -valor. Outra limitação consiste em assumir que um a dada função ou via metabólica é importante com base no número de genes ou associação estatística, ignorando o fato de que poucos genes diferencialmente expressos numa dada via podem ser suficientes para causar respostas globais. Além disso, os resultados baseiam-se completamente na anotação dos genes fornecida para um dado organismo.

O código-fonte do programa está disponível gratuitamente em três versões: para Linux, Windows e como um pacote para implementar um servidor local. O programa foi escrito na linguagem de programação estatística R (www.r-project.org) e o aplicativo pode ser utilizado com qualquer tipo de classificação funcional dos genes, contanto que o usuário possua tabelas de correspondência entre os genes e sua classificação funcional. A ferramenta *web* foi implementada para um conjunto de organismos com interesse particular como *Xylella fastidiosa*, *Blastocladiella emersonii* e *Xanthomonas citrii*, mas os códigos fonte estão disponíveis no sítio suplementar permitindo que outros pesquisadores tenham acesso ao programa.

2.3. SpotWhatR: um sistema de análise de dados de microarranjos de DNA com interface amigável

O sistema *SpotWhatR* tem como objetivo auxiliar na análise dos dados de microarranjos de DNA, através de uma interface amigável nos sistemas operacionais Windows e Linux. Desta forma, o pesquisador que não está familiarizado com linguagens de programação pode realizar a análise de seus dados de microarranjos, através de uma interface de janelas com menus interativos. No programa, o usuário encontra ferramentas para visualização gráfica, diversos métodos de normalização dos dados, a implementação do sistema *HTself* para encontrar genes diferencialmente expressos e alguns algoritmos de agrupamento.

As ferramentas implementadas no sistema *SpotWhatR* foram utilizadas e testadas em dados de microarranjos de DNA do fitopatógeno *X. fastidiosa* e do fungo aquático *B. emersonii*. Muitos dos programas também foram utilizados em dados de microarranjos de DNA de outros organismos como cana-de-açúcar (Papini-Terzi *et al.*, 2005) e *Trypanosoma cruzi* (Baptista *et al.*, 2004). Estes programas foram adaptados para serem utilizados numa interface amigável. Assim, o pesquisador pode testar diversos procedimentos de análise nos

seus dados, sem necessidade de programação. O sistema está implementado na linguagem estatística R (<http://www.r-project.org>), que é um programa de acesso aberto e gratuito. Desta forma, o sistema *SpotWhatR* pode ser adaptado com novas ferramentas, de acordo com a necessidade do pesquisador. O sistema *SpotWhatR*, assim como o manual para a sua utilização estão disponíveis em português e em inglês e no sítio: <http://blasto.iq.usp.br/~tkoide/SpotWhatR>.

Na visualização dos dados, o sistema oferece três tipos diferentes de gráficos: o gráfico de dispersão de $Cy3xCy5$, o gráfico MxA e o gráfico PxQ . O gráfico MxA permite a visualização da dependência da razão com a intensidade dos pontos da lâmina, já o gráfico PxQ auxilia na visualização de dados em que um gene não é expresso em uma das condições de estudo, o que leva a razões de valor indeterminado como infinito ou menos infinito. Além disso, *SpotWhatR* permite ampliar uma região do gráfico; identificar os pontos no gráfico com uma determinada propriedade e também mostrar um determinado valor de corte, como ilustrado na Figura 8.

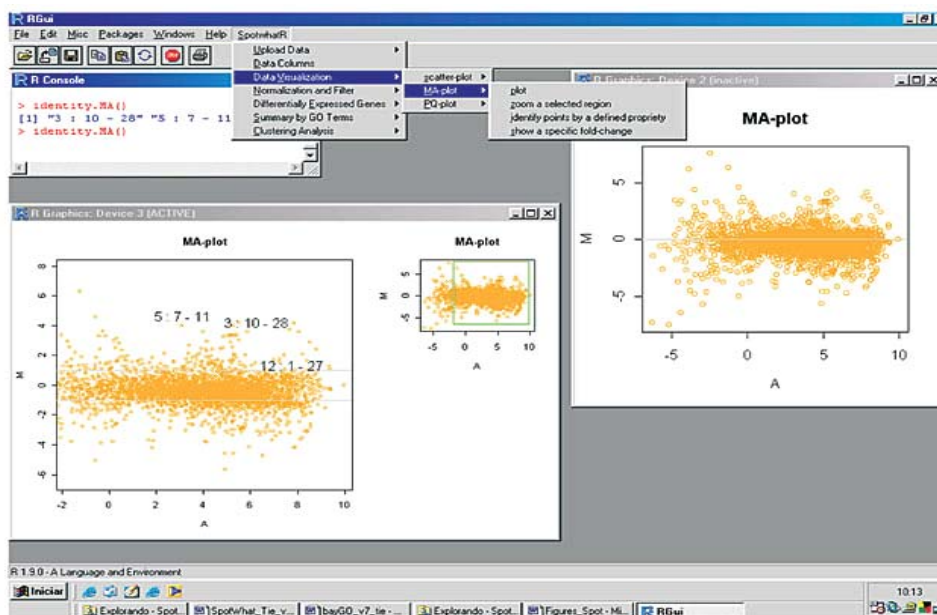
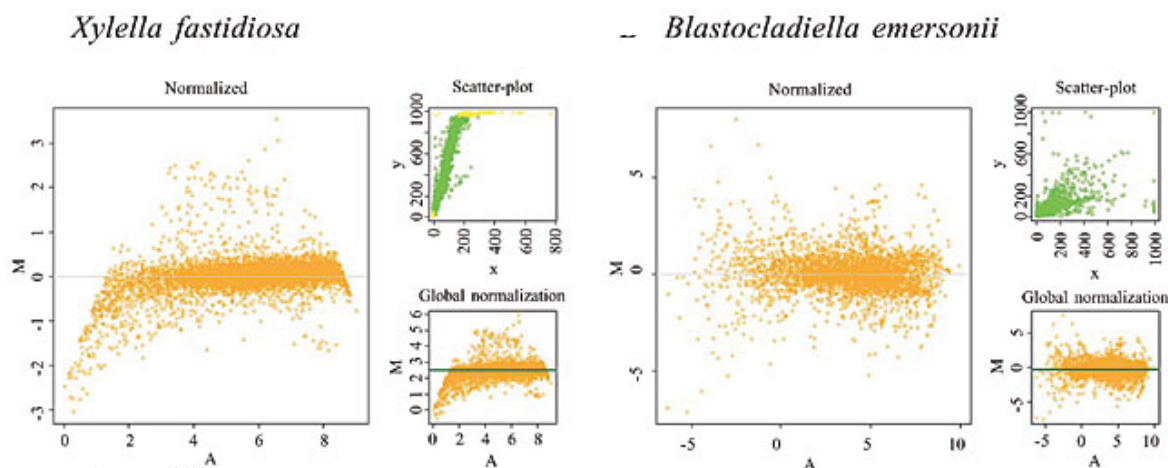


Figura 8: Interface com menus interativos para a utilização de ferramentas de análises de dados de microarranjos de DNA. Neste exemplo, está ilustrado o gráfico MxA e as opções de visualização gráfica disponíveis no sistema.

A etapa de normalização dos dados de microarranjos é muito importante, dadas as diferenças de incorporação e intensidade de fluorescência dos fluoróforos Cy3 e Cy5. Existem diversos métodos de normalização e cabe ao usuário definir o que é mais adequado ao seu conjunto de dados (Quackenbush, 2002; Yang *et al.*, 2002). No sistema *SpotWhatR*, foram incluídas três opções para a normalização: global, LOWESS e *dye-swap*. Nos dois primeiros métodos implementados, assume-se a hipótese de que a maioria dos genes não tem a sua expressão alterada, portanto, a média dos valores de razão deve ser 1 (ou log da razão = 0). Entretanto, dependendo do contexto biológico, assumir esta hipótese pode não ser um procedimento adequado, pois podem ocorrer mudanças globais nos níveis de expressão onde a maioria dos genes apresenta aumento ou diminuição nos valores de expressão (van de Peppel *et al.*, 2003). Esta informação é perdida quando se assume que não há mudança global, e nestes casos recomenda-se a utilização da normalização por *dye-swap*. O sistema permite que o usuário utilize um filtro nos dados antes da normalização, excluindo pontos de baixa intensidade, saturados, ou que apresentem algum problema na hibridização.

No método de normalização global, calcula-se uma constante para corrigir todos os pontos no experimento, correspondendo a uma translação nos valores de log da razão de forma a balancear a intensidade dos canais (Quackenbush, 2001). Por sua vez, o LOWESS leva em conta a dependência não-linear dos valores de log da razão com a intensidade do ponto. Na normalização por *dye-swap*, são necessários dois experimentos para se obter os valores de razão normalizada (Yang *et al.*, 2002). As diferenças entre os métodos aplicados aos dados de *X. fastidiosa* e *B. emersonii* estão ilustrados na Figura 9. É interessante notar que, dependendo do comportamento dos dados, a normalização pode ser feita por diferentes métodos, como no caso dos dados de *B. emersonii*, obtendo-se resultados semelhantes. Em outros casos, como nos dados de *X. fastidiosa*, observa-se que diferentes métodos resultam em comportamentos bastante distintos, onde a normalização não é adequada, como no caso da normalização global.

A. Normalização global



B. LOWESS

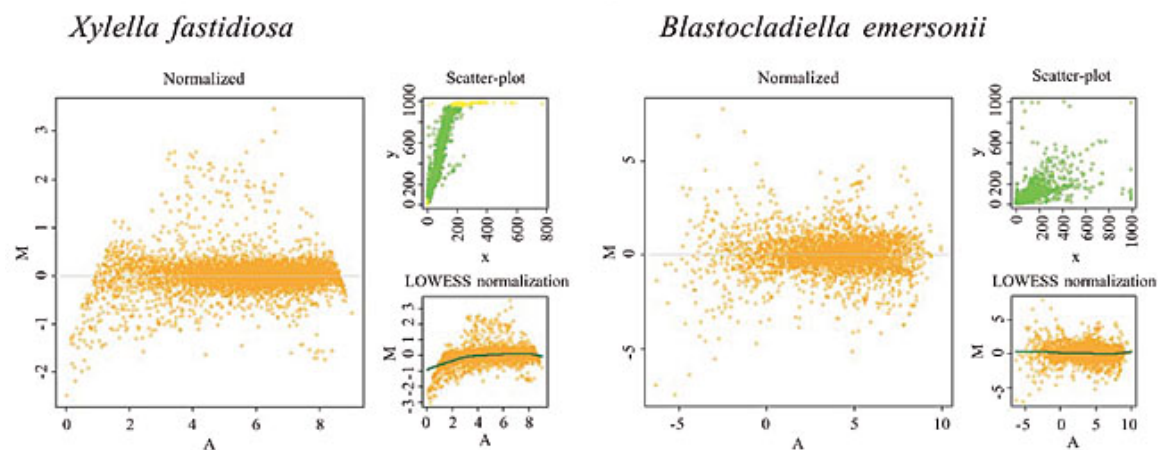
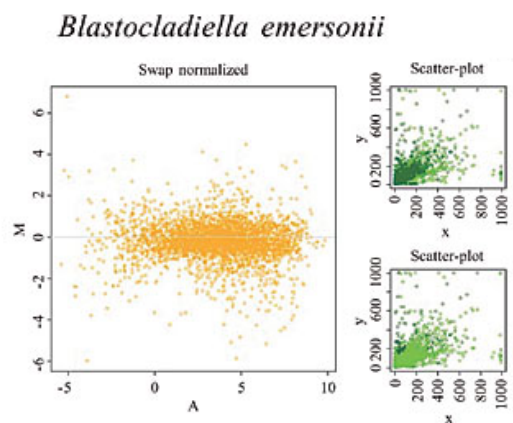


Figura 9: Exemplos de diferentes métodos de normalização aplicados a dados de *X. fastidiosa* e *B. emersonii*. O gráfico menor na parte superior à esquerda é o gráfico Cy3xCy5 dos dados não normalizados, onde os pontos em amarelo são os pontos saturados. O gráfico menor na parte inferior é o gráfico MxA dos dados não normalizados, a linha verde corresponde à média global (A) e ao ajuste por LOWESS (B). Em (C), exemplo de normalização por dye-swap.

C. Dye-swap

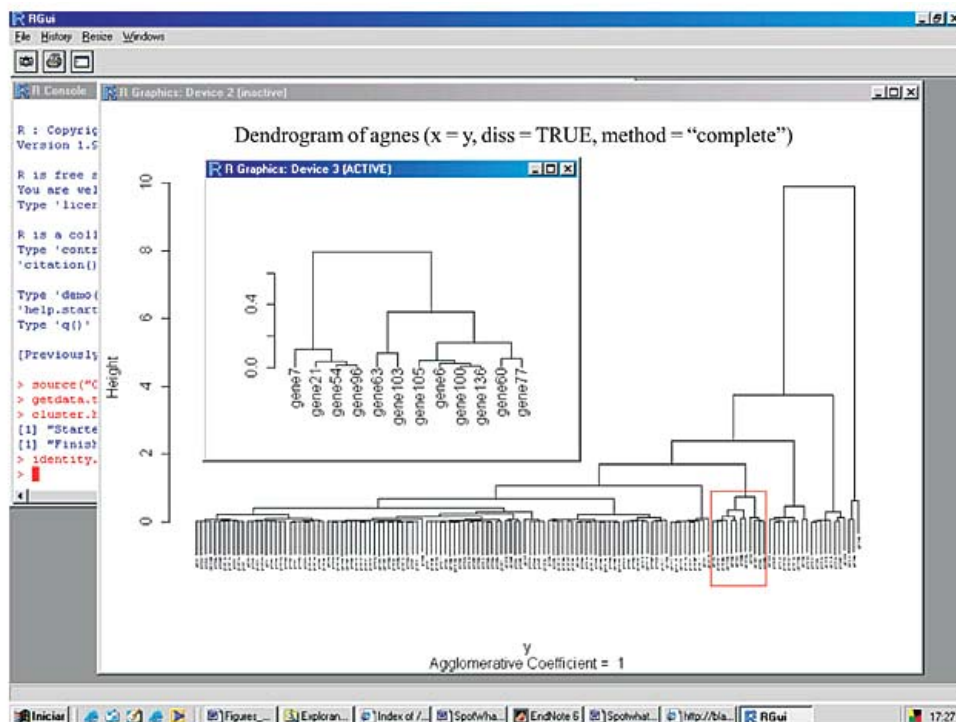


Para a determinação de genes diferencialmente expressos, implementou-se no sistema *SpotWhatR* o programa *Htself* para determinar cortes (intervalos de credibilidade) com base em experimentos homotípicos (ver seção III.2.1) (Vencio & Koide, 2005) e também a busca por genes que se encontram fora da distribuição, ou *outliers*. Neste método, os intervalos de credibilidade são definidos com base no próprio experimento sob análise, de forma a definir os genes que estão mais distantes da distribuição da maioria, definindo-se por exemplo, um intervalo de credibilidade de 80% e selecionando-se os 20% que se encontram fora do intervalo.

Além disso, o sistema oferece algoritmos de agrupamento para reunir genes com perfis de expressão semelhante. Os três algoritmos implementados são: agrupamento hierárquico, DIANA e *K-means*. Os diferentes métodos permitem que o usuário teste o algoritmo mais adequado à organização dos seus dados, visto que a escolha é feita de maneira empírica (Datta, 2003). Na análise de agrupamentos, calcula-se a distância entre os perfis de expressão dos genes, e para isso, foram implementados no programa *SpotWhatR* duas medidas de distância distintas: a medida euclideana clássica e uma medida de distância que incorpora as medidas repetidas dos experimentos de microarranjos (Yeung *et al.*, 2003). No agrupamento hierárquico, que é um algoritmo aglomerativo, o número inicial de grupos é igual ao número de genes e os genes com perfis semelhantes são sucessivamente agrupados, sem que haja mobilidade entre os grupos. No algoritmo DIANA, que é um algoritmo divisivo, todos os genes são inicialmente atribuídos a um único grupo e a cada passo, o grupo é sucessivamente dividido. Por sua vez, o algoritmo *K-means* é um algoritmo iterativo, onde o número inicial de grupos é determinado pelo usuário. O programa também permite a visualização dos agrupamentos através de dendogramas ou visualização dos perfis de expressão (Figura 10).

A versatilidade e código aberto da ferramenta permitem que o pesquisador explore seus dados de microarranjos de DNA sem a necessidade de programação, além de permitir a implementação de novas ferramentas.

A



B

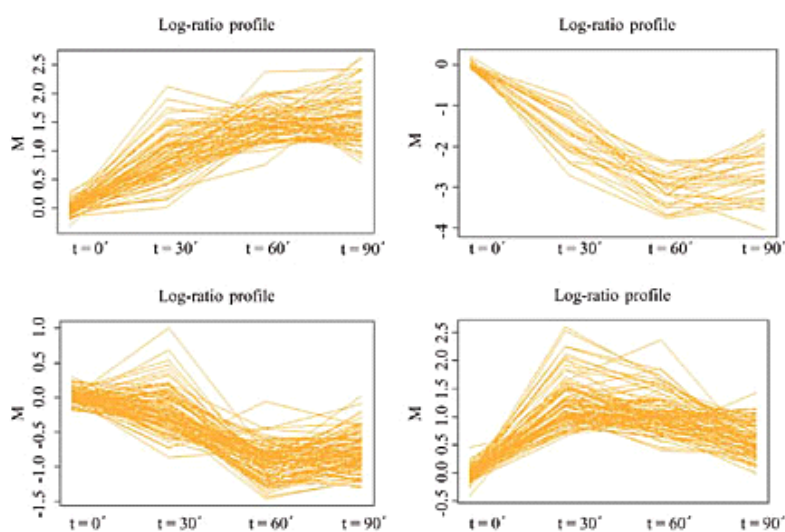


Figura 10: Visualização dos agrupamentos: Hierárquico (A) e *K-means* (B) dos dados de *B. emersonii*, utilizando as ferramentas disponíveis no sistema *SpotWhatR*. Em (A), o dendograma mostra 150 genes que foram agrupados pelo método hierárquico aglomerativo e a região destacada em vermelho é mostrada com um aumento maior. Em (B), são mostrados os perfis de expressão, onde o eixo *y* corresponde aos valores de M ($M = \log_2(Cy5/Cy3)$) e o eixo *x* corresponde aos tempos.

3. Análise global da expressão gênica de *Xylella fastidiosa* em resposta a estresses ambientais

3.1. Choque térmico

3.1.1. Análise global da expressão gênica durante o choque térmico

Para determinar as mudanças na expressão gênica de *X. fastidiosa* cepa 9a5c em resposta ao choque térmico, foram realizados experimentos em uma série temporal, transferindo as células de 29°C para 40°C e extraíndo amostras de RNA após diferentes tempos. As condições de estresse utilizadas foram determinadas a partir de experimentos de *Northern blot* utilizando como sonda o gene *groEL* de *X. fastidiosa*, onde se detectou uma maior indução do gene a 40°C, com pico por volta dos 20 min de exposição a alta temperatura (M. Avedissian, dados não publicados).

Após a síntese e marcação do cDNA, as amostras foram hibridizadas nos microarranjos de DNA utilizando como referência a temperatura normal de cultivo (29°C). Os genes foram classificados como diferencialmente expressos durante o choque térmico se pelo menos 80% das réplicas estivessem fora do intervalo de credibilidade definido pelos experimentos homotípicos, utilizando no mínimo 5 réplicas, conforme descrito em Material e Métodos. Globalmente, cerca de 20% dos genes foram significativamente induzidos ou reprimidos no período de 45 minutos após o aumento da temperatura: 261 genes foram induzidos (9,7%) e 222 genes foram reprimidos (8,3%). O número de genes diferencialmente expressos em cada um dos tempos de choque térmico (7, 15, 25 e 45 min) foram: 28, 90, 182 e 166 para os genes induzidos e 3, 49, 128 e 156 para os genes reprimidos, respectivamente. Dentre os genes diferencialmente expressos, 110 originalmente classificados como hipotéticos ou hipotéticos conservados foram reanotados utilizando as ferramentas BlastP (Altschul *et al.*, 1997) e Pfam (Bateman *et al.*, 2004). Um total de 67 genes tiveram uma provável função

atribuída com base na anotação eletrônica e 43 genes passaram de hipotéticos para hipotéticos conservados. Uma lista completa dos genes diferencialmente expressos está disponível no sítio do projeto e nas Tabelas S2 e S3. Além disso, o mapa do genoma de *X. fastidiosa* e mapas do KEGG das vias metabólicas coloridos de acordo com a expressão (induzidos / reprimidos / sem alteração) estão disponíveis no sítio do projeto.

A classificação funcional dos genes diferencialmente expressos de acordo com o banco de dados do genoma de *X. fastidiosa* está apresentada na Figura 11. Muitos genes codificando proteínas hipotéticas e hipotéticas conservadas apresentaram níveis alterados no choque térmico. Dentre os genes induzidos, 37 (14,2%) codificam proteínas hipotéticas conservadas e 44 (16,8%) codificam proteínas hipotéticas. Dentre os genes reprimidos, 33 codificam hipotéticas conservadas (14,8%) e 31 codificam proteínas hipotéticas (13,9%). Apesar dos genes hipotéticos corresponderem a aproximadamente 31% dos genes induzidos e 29% dos genes reprimidos, estes números não são maiores do que os observados no genoma total de *X. fastidiosa*, onde 51% dos genes anotados são hipotéticos ou hipotéticos conservados.

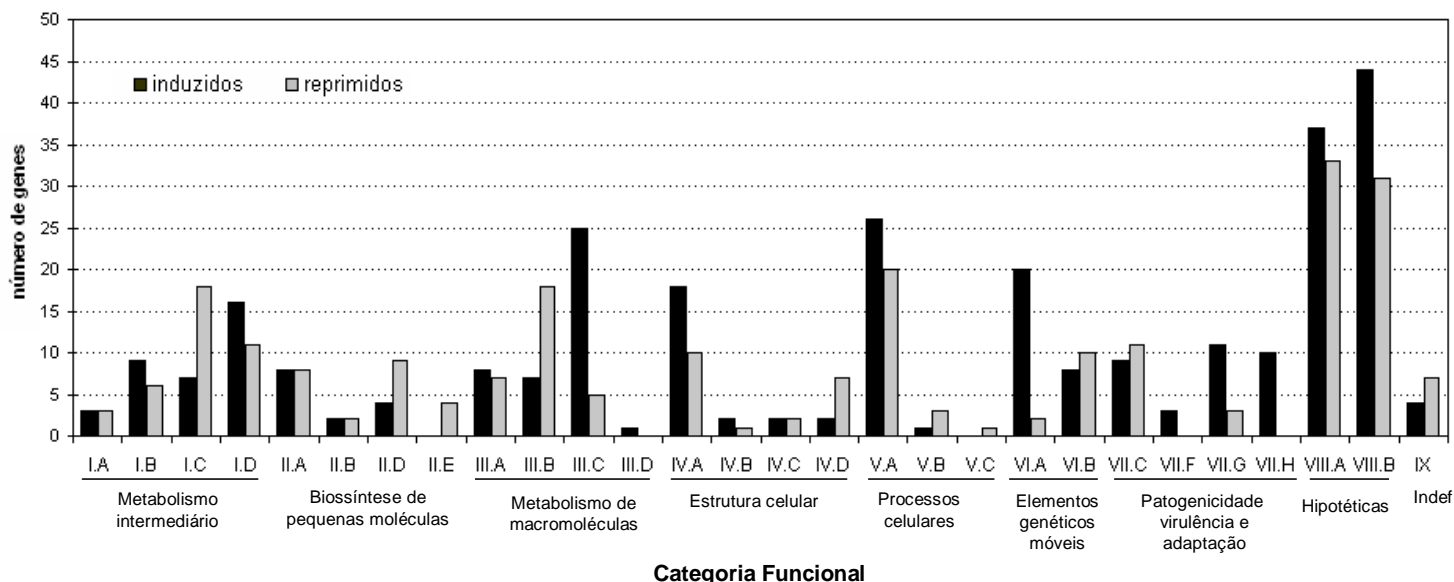


Figura 11: Genes diferencialmente expressos no choque térmico, agrupados por categorias funcionais, de acordo com o banco de dados de *X. fastidiosa*. As colunas pretas se referem ao número de genes induzidos e as cinzas, aos genes reprimidos durante o choque térmico. Categoria I: Metabolismo intermediário, I.A: Degradação, I.B: Metabolismo Intermediário Central, I.C: Metabolismo energético, I.D: Funções regulatórias. Categoria II: Biossíntese de pequenas moléculas, II.A: Biossíntese de aminoácidos, II.B: Biossíntese de nucleotídeos, II.D: Cofatores, grupos prostéticos, biossíntese de carregadores, II.E: Biossíntese de ácidos graxos e ácido fosfatídico. Categoria III: Metabolismo de macromoléculas, III.A: Metabolismo de DNA, III.B: Metabolismo de RNA, III.C: Metabolismo de proteína, III.D: Metabolismo de outras macromoléculas. Categoria IV: Estrutura Celular, IV.A: Componentes de membrana, IV.B. Peptidoglicano, IV.C: Polissacarídeos de superfície, lipopolissacarídeos e antígenos, IV.D: Estruturas de superfície. Categoria V: Processos Celulares, V.A: Transporte, V.B: Divisão celular, V.C: Quimiotaxia e motilidade. Categoria VI: Elementos genéticos móveis, VI.A: Funções relacionadas a fagos, VI.B: Funções plasmidiais. Categoria VII: Patogenicidade, virulência e adaptação. VII.C: Produção de toxinas e detoxificação, VII.F: Proteínas de superfície, VII.G: Adaptação a condições atípicas, VII.H. Outros. Categoria VIII: Proteínas hipotéticas, VIII.A: Proteínas hipotéticas conservadas, VIII.B: Proteínas hipotéticas. Categoria IX: ORFs com categoria indefinida.

3.1.2. Série temporal

Para obter uma visão estruturada dos perfis de expressão ao longo do tempo dos genes que apresentaram expressão diferencial durante o choque térmico, foi feito um agrupamento dos perfis de expressão ao longo do tempo utilizando o algoritmo *K-means* com 6 grupos. O número de grupos foi determinado através da análise de componentes principais, como ilustrado na Figura 12. As componentes (autovalores) são ordenadas de acordo com a sua contribuição para a variabilidade total e é calculada a diferença entre as componentes sucessivas (delta autovalor). O gráfico mostra que não há contribuição relevante após a 6^a componente, indicando que, teoricamente, não há ganho de informação ao se utilizar mais de 6 grupos.

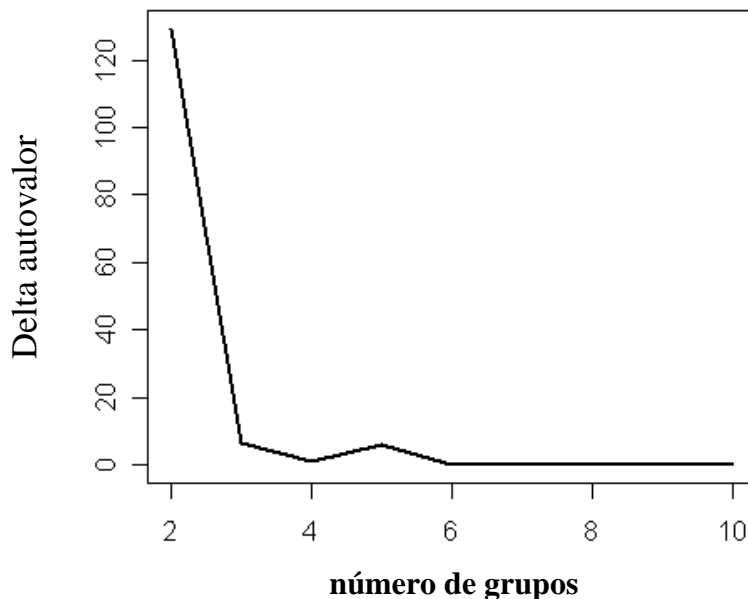
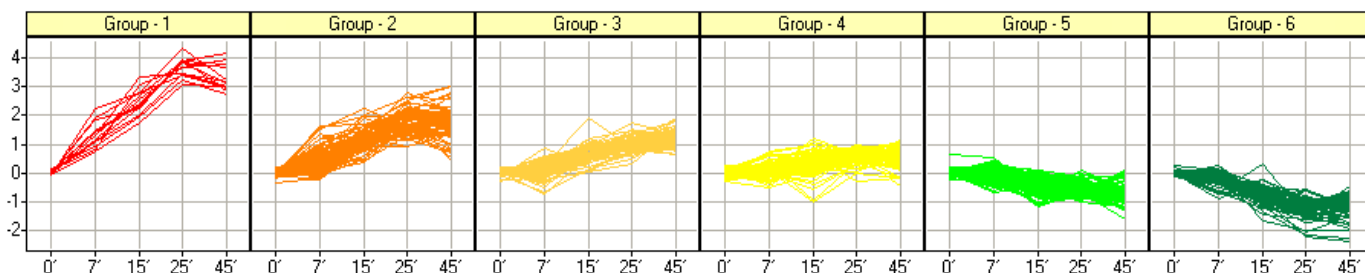


Figura 12: Análise de componentes principais para os genes diferencialmente expressos durante o choque térmico. O eixo x mostra o número de grupos e o eixo y, o delta autovalor, ou seja, a diferença entre as componentes principais sucessivas. Observa-se que não há diferença entre a 7^a e 6^a componente, indicando que, teoricamente, não é necessário utilizar mais do que 6 grupos. Este número de grupos foi utilizado como entrada no algoritmo *K-means* de agrupamento.

Para caracterizar cada um dos grupos com base nas categorias funcionais, foi feita uma busca pelas categorias mais representadas em cada grupo. Na Figura 13, mostramos o agrupamento utilizando *K-means* e uma tabela indicando as categorias funcionais mais representadas em cada grupo. A lista completa dos genes em cada grupo está na Tabela suplementar 4.



Grupo	Categorias funcionais altamente representadas
1	Chaperones, Degradação de proteínas, Adaptação a condições atípicas
2	Funções relacionadas a fagos, Degradação de pequenas moléculas, Proteínas hipotéticas e hipotéticas conservadas.
3	Tradução e modificação, Componentes de Membrana, Membrana Interna, Proteínas hipotéticas
4	Patogenicidade, virulência e adaptação: produção de toxinas e detoxificação, outros. Transporte, Secreção de peptídeos e proteínas.
5	Respiração aeróbica, Biossíntese de pequenas moléculas, Proteínas ribossomais, Síntese de RNA, Aminoacil-tRNA sintetases.
6	Metabolismo energético, ciclo do TCA, produção de ATP, Reparo de DNA, Estrutura celular: polissacarídeos de superfície, lipopolissacarídeos e estruturas de superfície.

Figura 13: Agrupamento dos genes diferencialmente expressos durante o choque térmico. O algoritmo utilizado foi o *K-means* com 6 grupos, utilizando os perfis de expressão dos genes que apresentavam a série temporal completa. O eixo y mostra os valores de M ($M = \log_2(40^\circ\text{C}/29^\circ\text{C})$) e o eixo x mostra os tempos de choque térmico. A tabela mostra as categorias funcionais altamente representadas em cada um dos grupos. Uma categoria funcional foi considerada como altamente representada se a sua presença no grupo fosse significativa ($P < 0.05$).

Dentre os genes induzidos no choque térmico, pode-se observar dois padrões principais: genes que apresentam um rápido aumento no nível do transcrito, seguido por uma redução (grupo 1); e os que apresentam uma taxa de aumento constante e mais suave (grupos 3 e 4). O grupo 2 é um híbrido destes dois padrões. O grupo 1 contém genes que codificam chaperones e proteases, que apresentaram os maiores níveis relativos de expressão. Além disso, os genes no grupo 1 apresentam um aumento transitório, característico de genes de choque térmico, dado que podemos observar uma redução nos níveis dos transcritos após 45 minutos de exposição a 40°C. O grupo 2 é caracterizado pela presença de genes relacionados a fagos e proteínas hipotéticas. Cerca de metade dos genes no grupo 2 (33 genes) apresenta padrão de expressão similar ao grupo 1, ou seja, uma cinética característica de genes de choque térmico, porém, com níveis de expressão mais baixos. O grupo 3 contém genes relacionados à síntese e modificação de proteínas e a componentes de membrana. O grupo 4 é o que apresenta os menores níveis de indução e agrupa 15 genes relacionados a patogenicidade, virulência e adaptação. Entre eles, 8 são relacionados à produção de toxinas e detoxificação. A categoria de secreção de proteínas e peptídeos também foi altamente representada neste grupo.

O grupo 5 é composto por genes que foram reprimidos no choque térmico e contém genes relacionados à respiração aeróbica, biossíntese de pequenas moléculas, proteínas ribossômicas, síntese de RNA e aminoacil-tRNA sintetases. O grupo 6 contém genes com os maiores níveis de repressão, os quais estão relacionados a estruturas celulares como estruturas de superfície e polissacarídeos. Muitos dos genes envolvidos com estruturas de superfície estão relacionadas à fímbria do tipo IV. Além disso, o grupo 6 contém genes relacionados ao metabolismo energético. A repressão de genes relacionados ao metabolismo e à síntese de proteínas indica uma atividade metabólica diminuída durante o choque térmico.

Mudança global nos níveis de mRNA

Os genes descritos como relacionados à resposta ao choque térmico foram selecionados com base nos níveis de expressão relativos à maioria dos genes, procedimento usual adotado na análise de dados de microarranjos de DNA. Na normalização por LOWESS utilizada, assume-se que a expressão da maioria dos genes não se altera durante o choque térmico e a normalização é feita estimando-se uma constante dependente da intensidade dos pontos. Existem outros métodos de normalização, dentre eles o *dye-swap*, que não assume a hipótese de que a expressão da maioria dos genes não se altera, pois a normalização é feita de forma a cancelar as constantes envolvidas. Para isso, utiliza-se um par de experimentos onde as amostras A e B são marcadas com Cy3 e Cy5, no experimento 1 e com Cy5 e Cy3 no experimento 2, respectivamente. Um trabalho recente mostrou que é possível estimar mudanças globais na expressão gênica através da utilização de controles externos bem calibrados ou utilizando *dye-swap*. A mudança global na expressão gênica foi detectada em células endoteliais humanas submetidas ao choque térmico (van de Peppel *et al.*, 2003).

Dada a disponibilidade de um conjunto de experimentos passíveis de serem normalizados por *dye-swap*, que não assume que a maioria dos genes não se altera, investigamos se esta mudança global nos níveis de expressão ocorre durante o choque térmico em *Xylella*. A normalização por *dye-swap* foi aplicada a um par de lâminas de microarranjos de cada um dos seguintes tempos de choque térmico: 7, 25 e 45 minutos. A figura 14 mostra a distribuição do logaritmo na base 2 dos valores de razão (M) dos dados de *dye-swap* normalizados para os tempos de choque térmico considerados. As curvas mostram a função densidade de probabilidade (DP), que podem ser intuitivamente consideradas como histogramas suavizados, ou seja, o eixo y mostra o número de genes (normalizados para que a área sob a curva seja igual a 1) que apresentam o valor de M na faixa de valores considerada. Por exemplo, a curva de 25 min é intuitivamente equivalente a um histograma em que a maioria das observações apresenta valores de M entre -2 e -1.

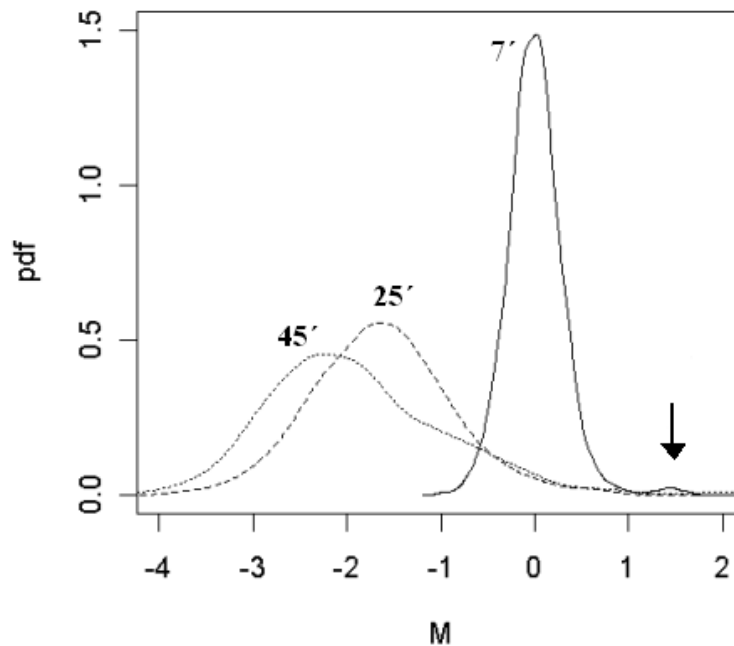


Figura 14: Mudanças globais na expressão gênica em resposta ao choque térmico. O gráfico mostra os histogramas suavizados (DP) dos log das razões de expressão ($M = \log_2(40^\circ\text{C}/29^\circ\text{C})$) para 7, 25 e 45 minutos de choque térmico, conforme indicado. A seta mostra os genes induzidos aos 7 minutos de choque térmico.

Pode-se notar que, à medida que o tempo de choque térmico aumenta, há um desvio da distribuição dos valores de M para valores negativos, indicando uma redução global nos níveis de expressão à medida que as células são expostas a altas temperaturas por períodos mais longos.

No primeiro ponto de choque térmico (7 min), pode-se observar que a maioria dos genes está distribuída em torno de $M=0$, indicando que não houve mudança global nos níveis de expressão. A seta na Figura 14 mostra um pequeno pico que corresponde aos genes induzidos aos 7 minutos de choque térmico. Nos tempos seguintes, há um desvio das razões de expressão para valores de M negativos, indicando uma possível redução global nos níveis de mRNA durante o choque térmico. Quanto maior o período de exposição, maior o desvio da

distribuição de M para valores negativos. Esta redução global nos níveis de transcrição durante o choque térmico pode ser devido à redução da estabilidade do fator sigma vegetativo σ^{70} a temperaturas elevadas, como foi demonstrado para *E. coli* e *Caulobacter crescentus* (Blaszczak *et al.*, 1995; Simao *et al.*, 2005).

3.1.3. Validação dos perfis de expressão por RT-PCR quantitativo

Para validar os perfis de expressão, foram realizados experimentos de RT-PCR quantitativo para 10 genes selecionados, utilizando três réplicas biológicas independentes de cada um dos tempos de choque térmico. A correlação entre os valores de razão de expressão ($M = \log_2(40^\circ\text{C}/29^\circ\text{C})$) obtidos nos experimentos de microarranjos de DNA e RT-PCR quantitativo foi de 0.89, indicando uma alta concordância entre os experimentos. A figura 15 mostra os dados comparando os resultados de microarranjos e RT-PCR quantitativo para os genes selecionados.

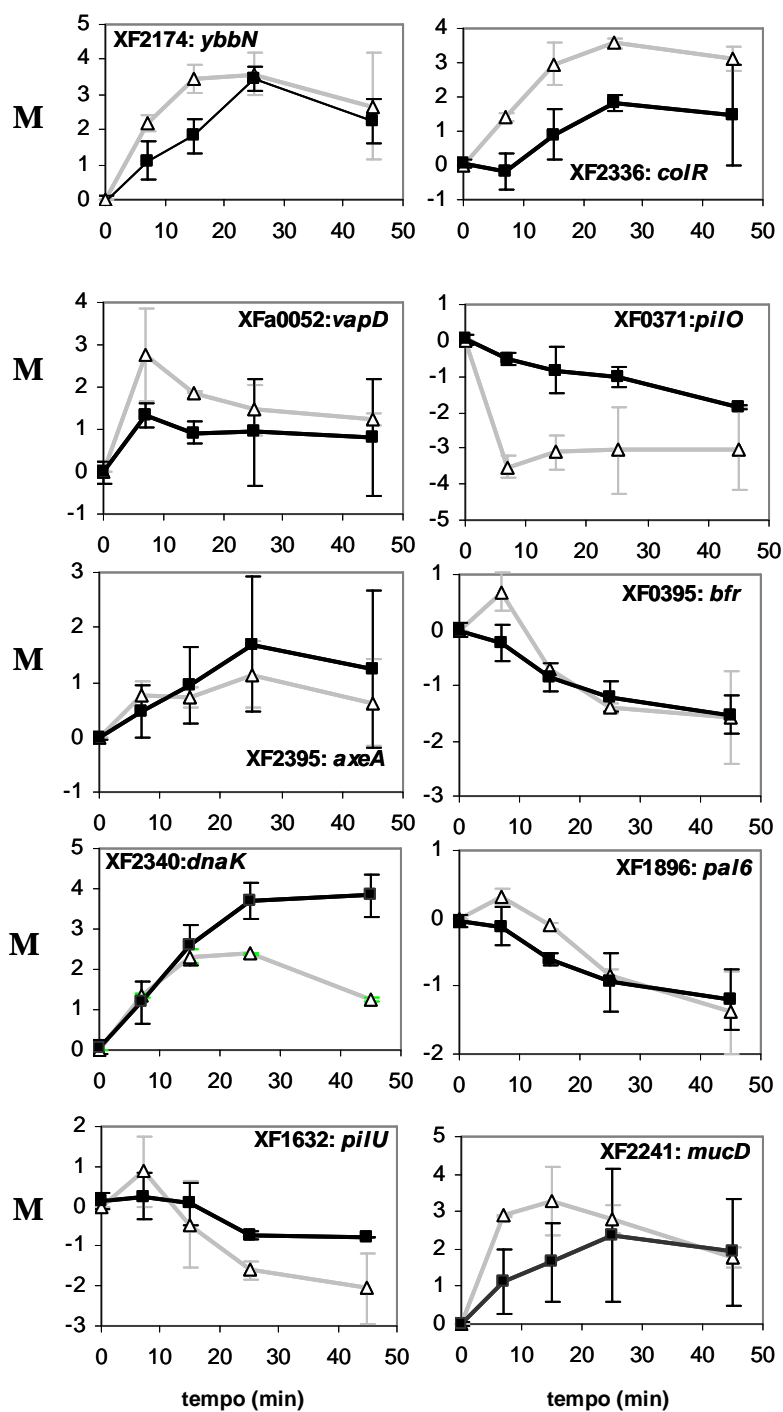


Figura 15: Níveis de expressão durante o choque térmico de 10 genes selecionados, analisada por RT-PCR quantitativo (linha cinza, triângulos) e por microarranjos de DNA (linha preta, quadrados), onde $M = \log_2(40^\circ\text{C}/29^\circ\text{C})$. Os resultados são a mediana de três réplicas biológicas independentes para os dados de microarranjos e RT-PCR quantitativo.

3.1.4. Função dos genes diferencialmente expressos

Genes de choque térmico

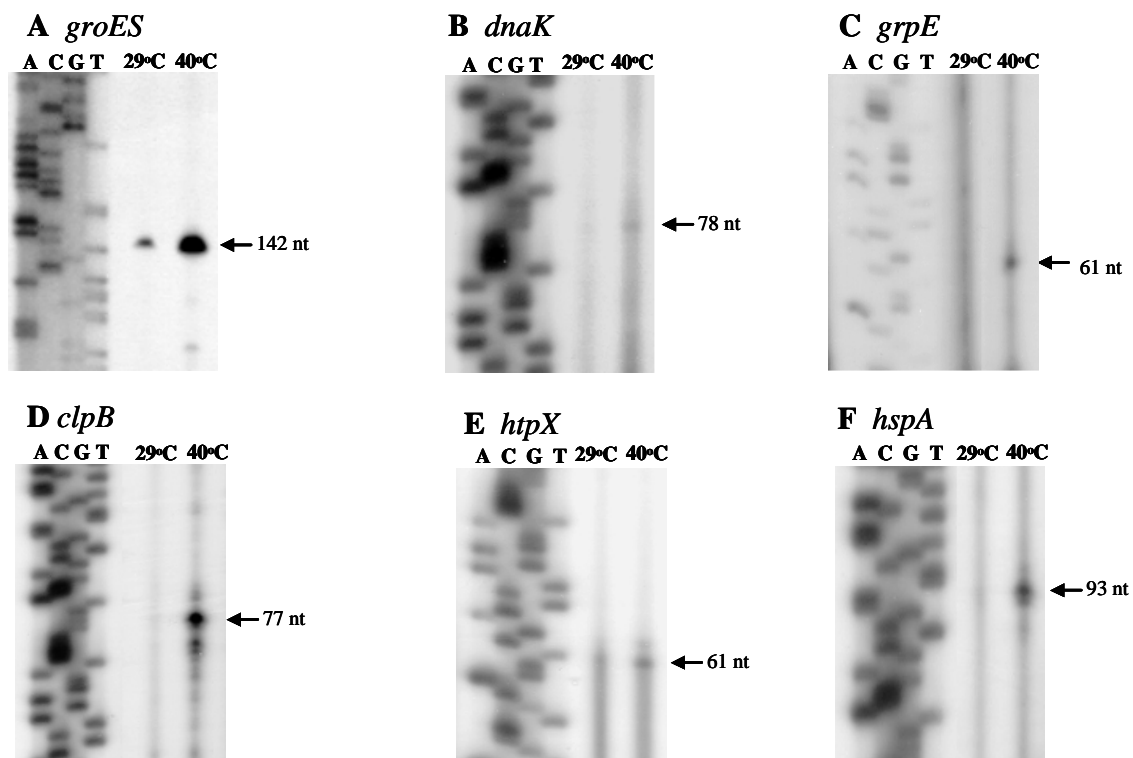
Os experimentos de microarranjos revelaram a indução de genes codificando proteínas de diferentes famílias de Hsps que tem sido caracterizadas como envolvidas na resposta ao choque térmico em diferentes organismos: as chaperones GrpE (Hsp20), DnaK (Hsp70), DnaJ (Hsp40), GroES (Hsp10), GroEL (Hsp60), ClpB (Hsp100), agrupadas no grupo 1, proteases dependentes de ATP como Lon, ClpP (grupo 4), ClpA (grupo 2), HslU (grupo 2), HslV (grupo 1) e outras proteínas de choque térmico como HtpX (grupo 1), HlsO (Hsp33-grupo 4), HtpG (Hsp90-grupo 2) e HspA (α -Hsp-grupo 1). Dentre os genes induzidos, identificamos 3 originalmente anotados como proteínas hipotéticas: XF0862 (grupo 3), XF0882 (grupo 3) e XF2594 (grupo 1), que foram reanotadas neste trabalho como peptidases.

Os genes pertencentes ao grupo 1 foram os que apresentam os maiores valores de indução (Tabela 4) e, exceto pelos genes XF2174 e Xfa0048, todos os outros genes codificam Hsps clássicas que são reguladas pelo fator σ^{32} em outras bactérias gram-negativas (Yura & Nakahigashi, 1999). Para obter uma seqüência consenso para prováveis promotores dependentes de σ^{32} em *X. fastidiosa*, realizamos ensaios de extensão de oligonucleotídeos com transcriptase reversa para determinar o início de transcrição de seis genes do grupo 1 : *dnaK*, *grpE*, *clpB*, *groES*, *htpX* e *hspA*.

Tabela 4: Genes com os maiores níveis de indução durante o choque térmico (grupo 1 no agrupamento *K-means*)

Gene	Função	Nome do gene	Indução			
			7 min	15 min	25 min	45 min
XF0381	Chaperone	<i>clpB</i>	2.1	4.9	14.4	13.8
XF0615	Chaperone	<i>groEL</i>	3.6	4.7	15.2	7.2
XF0616	Chaperone	<i>groES</i>	3.8	6.9	19.8	9.3
XF1484	Protease	<i>hslV</i>	1.9	3.9	9.4	6.7
XF2174	Tiorredoxina	<i>ybbN</i>	2.1	4.1	10.8	9.0
XF2233	Chaperone	<i>dnaJ</i>	2.5	6.3	14.8	18.0
XF2234	Chaperone	<i>hspA</i>	2.5	10.2	10.9	7.9
XF2340	Chaperone	<i>dnaK</i>	2.2	5.9	12.5	13.7
XF2341	Fator de troca de nucleotídeo	<i>grpE</i>	2.7	5.0	13.9	8.5
XF2594	Protease	<i>b2494</i>	1.7	8.2	12.6	15.0
XF2625	Protease	<i>htpX</i>	2.8	5.2	14.2	12.5
XFa0048	Provável proteína de mobilização	<i>mobC</i>	4.6	6.9	10.4	7.6

O início de transcrição de cada gene foi mapeado utilizando como molde o RNA total de células cultivadas a temperatura normal (29°C) e de células isoladas após 25 minutos de choque térmico a 40°C, quando foi observado o pico de indução destes genes. A figura 16 mostra o tamanho do produto de extensão obtido para cada genes e o alinhamento das prováveis regiões promotoras -35 e -10, determinadas a partir do início de transcrição. Podemos observar que, para todos os seis genes testados, a quantidade de produto é maior a 40°C do que a 29°C, confirmando os aumentos nos níveis de mRNA durante o choque térmico observados nos experimentos de microarranjos de DNA.



G Alinhamento das prováveis seqüências promotoras

	-35		-10		+1	
<i>clpB</i>	AAATGAACACATA	<u>CTTGGTC</u>	ATCGG---	TCGTGT	<u>CCTTGAAA</u>	GTGACTTGTAAACCGC
<i>groE</i>	ATCTCTGAACCCC	<u>CTTGAAA</u>	CCCCTAC-	ACTCAG	<u>CCATATAT</u>	GCCCGTCTTGATCC
<i>hspA</i>	ATACCTTCGGGT	<u>CTTGAAA</u>	AATAGC----	GTCG	<u>CCGTGCTT</u>	ATCTGTAGCACTAAA
<i>dnaK</i>	GTCTTGACAGCCG	<u>CTTGAGC</u>	AGGCGTC-	GGTCAT	<u>CCCCACAT</u>	TCGAAACAGAT
<i>grpE</i>	CATGCCTGGGTGG	<u>CTTGAAA</u>	AGCTGGC---	GGCTT	<u>GCCCACAT</u>	ACGGGTGGGGTC
<i>htpX</i>	ATCAGTTTTATCG	<u>CTTGATA</u>	ATTCACTGAGACTGG	<u>CCACACAT</u>	TCTGATGT	TGTAT

Consenso:

<i>X. fastidiosa</i> :	CTTGAAA	9-14	CCNCACAT
<i>X. campestris</i> :	CTTGAA	12-14	CCCACATN
<i>E. coli</i> :	CTTGAAA	13-15	CCCCATNT

Figura 16: Determinação do início de transcrição dos genes *groES* (A), *dnaK* (B), *grpE* (C), *clpB* (D), *htpX* (E) e *hspA* (F) em experimentos de extensão de oligonucleotídeo. A seqüência de referência utilizada é a do fago M13mp18. O tamanho dos produtos de extensão estão indicados na figura. Em (G), é mostrado o alinhamento das regiões -35 e -10 das prováveis seqüências promotoras, determinadas a partir do início de transcrição, indicado com o quadrado cinza. A seqüência consenso para os promotores de σ^{32} em *Xanthomonas campestris* e *E. coli* estão mostradas para comparação.

Em *Xylella*, *groES* está organizado num provável operon com *groEL* e sua provável região promotora apresenta regiões -35 e -10 muito semelhantes ao consenso para promotores dependentes de σ^{32} de *E. coli* (Figura 16A). O operon *groESL* de *Xylella* também possui o elemento CIRCE (Controlling Inverted Repeat of Chaperone Expression: TTAGCACTC-N9-GAGTGCTAA), localizado 48 nucleotídeos a montante do início de tradução de *groES*. Esta seqüência regulatória é o sítio de ligação da proteína repressora HrcA, constituindo o sistema CIRCE-HrcA que regula a expressão de genes de choque térmico em diversas bactérias. Nas gram-positivas, o sistema CIRCE-HrcA controla a indução de diversos genes de choque térmico em resposta ao aumento da temperatura, enquanto que em gram-negativas como *C. crescentus* e *Agrobacterium tumefaciens*, a seqüência CIRCE só é encontrada a 5' do operon *groESL* e seu papel é restrito à repressão deste operon em condições sem estresse (Avedissian & Gomes, 1996; Baldini *et al.*, 1998; Nakahigashi *et al.*, 1999). Em *X. fastidiosa*, o elemento CIRCE também é encontrado somente no operon *groESL*, porém, sua função no controle deste operon em condições de choque térmico ainda deverá ser investigada.

Quanto ao gene *dnaK*, seu início de transcrição foi mapeado e uma provável região promotora dependente de σ^{32} foi encontrada. Porém, o sinal correspondendo ao início de transcrição apresentou-se com intensidade muito fraca, mesmo a 40°C (Figura 16B). Este resultado não é compatível com os altos níveis de expressão de *dnaK* observados nos experimentos de microarranjos de DNA e confirmados por RT-PCR quantitativo. O gene *dnaK* (XF2340) está organizado num provável operon compreendendo *hrcA-grpE-dnaK-dnaJ*. Observando o produto de extensão de 61 nucleotídeos obtido para o gene *grpE* (Figura 16C), verifica-se que o nível de mRNA é muito mais alto no choque térmico, o que pode indicar que o gene *dnaK* seja transcrito principalmente a partir do promotor localizado a 5' de *grpE*. O início de transcrição do gene *grpE* foi mapeado próximo ao início de tradução proposto por Weng e colaboradores (Weng *et al.*, 2001). É interessante notar que o gene *hrcA*

não foi classificado como sendo diferencialmente expresso nos experimentos de microarranjos pois não passou nos critérios estatísticos estabelecidos.

Determinação de uma seqüência consenso para promotores dependentes de σ^{32} em *X. fastidiosa*

Comparação das regiões -35 e -10 determinadas pelo mapeamento do início de transcrição de seis genes codificando Hsps permitiu a proposição de uma provável seqüência consenso para os promotores dependentes de σ^{32} em *X. fastidiosa*. Utilizando a informação obtida experimentalmente, foram construídas matrizes de probabilidade e foi utilizada uma abordagem *in silico* para sugerir prováveis promotores dependentes de σ^{32} . A Figura 17 mostra as matrizes de probabilidade utilizadas nas buscas para as regiões -35 e -10, juntamente com os *logo-plots* das seqüências. As matrizes foram utilizadas separadamente no programa Patser implementados na ferramenta *Regulatory Sequence Analysis tools* (van Helden, 2003) para descobrir os prováveis promotores dependentes de σ^{32} .

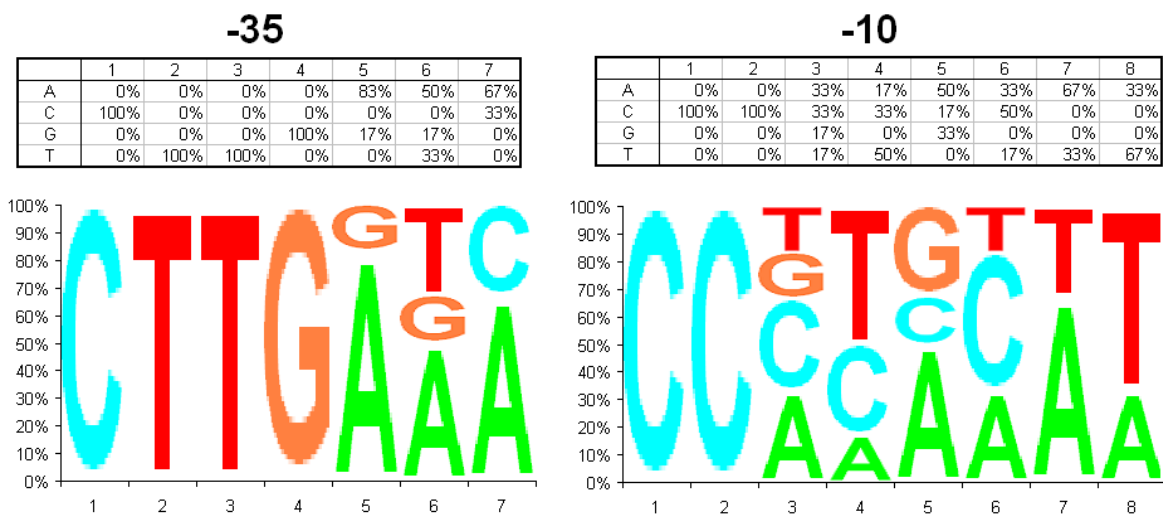


Figura 17: Matriz de probabilidade para os promotores dependentes de σ^{32} . A figura mostra as matrizes para as regiões -35 e -10, juntamente como os *logo-plots* das seqüências. As matrizes foram utilizadas separadamente como entrada no programa PATSER.

Como mostra a Figura 16G, o consenso obtido para *Xylella* é similar aos propostos em outras bactérias gram-negativas, principalmente na região -35, porém, o espaçamento apresenta maior variação. Realizamos buscas por esta sequência consenso na região 5' dos 261 genes que apresentaram indução no choque térmico em *Xylella*, conforme descrito em Material e Métodos. A busca resultou em 42 prováveis membros do regulon σ^{32} que apresentaram aumento nos níveis de transcrição durante o choque térmico. Este número é estatisticamente significativo ($P < 0.05$) quando comparado com a proporção de prováveis promotores encontrados nos genes não-induzidos.

Dentre os 42 genes, além dos seis a partir do qual o consenso foi obtido, encontramos genes relacionados ao choque térmico como *htrA*, que codifica uma protease, *hslV* que está organizada em um provável operon com *hslU*, que codifica um sistema de proteassomo e *hslO*, da família Hsp33. Além disso, 5 genes relacionados a fago e nove genes codificando proteínas hipotéticas ou hipotéticas conservadas apresentaram prováveis promotores dependentes de σ^{32} na região 5' não-codificadora. É importante ressaltar que esta análise deve ser cuidadosamente considerada visto que a busca foi feita nos 200 nucleotídeos a 5' do início de tradução, sem conhecimento do início de transcrição de cada um dos genes. Uma lista completa do genes e da provável região promotora está na Tabela S5.

Resposta ao estresse extracitoplasmático

Entre os genes que apresentaram indução no choque térmico, foram encontrados diversos genes relacionados com o envelope celular. Por exemplo, encontrou-se *rfaA* (XF0256, grupo 4) e *glmU* (XF1140, grupo 3) envolvidos na biossíntese de lipopolissacarídeo, assim como *rfaU* (XF0879, grupo 3), *mltB* (XF2184, grupo3), *rlpA* (XF2185, grupo2) e *murA* (XF1415, group4), envolvidos na biossíntese de peptidoglicano. Dado que alterações na estrutura do lipopolissacarídeo afetam a proporção de proteínas de membrana externa, a transcrição diferencial de genes relacionados ao envelope celular indica

o envolvimento da resposta a estresses extracitoplasmáticos. Em *E. coli*, estudos caracterizando o regulon de σ^E indicam que este fator sigma alternativo controla a expressão de genes relacionados ao dobramento de proteínas no periplasma, genes relacionados à biossíntese do lipídeo A e genes que codificam lipoproteínas (Alba & Gross, 2004). Além disso, foi observada a indução de diversos genes caracterizados como membros do regulon de σ^E em *E. coli* como *mucD* (XF2241, grupo 2) e *degP* (XF0285, grupo3), que codificam proteases periplasmáticas envolvidas em virulência em *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexinery* e *Klebsiella pneumoniae* (Raivio & Silhavy, 2001); *rseA* (XF2240, grupo 2), que atua como regulador negativo da atividade de σ^E em *E. coli*; *bacA* (XF1841, grupo 2), que está envolvido na montagem do lipopolissacarídeo e biossíntese de peptidoglicano (Rezuchova *et al.*, 2003; Rhodius *et al.*, 2006); e *dsbA* (XF1436, grupo 4), que auxilia na formação de pontes dissulfeto em proteínas extracitoplasmáticas. É interessante notar que *dsbA* assim como *degP* têm sido caracterizadas em muitos patógenos bacterianos como importantes fatores de virulência (Raivio, 2005). Em *Xylella*, *dsbA* apresentou uma indução modesta durante o choque térmico (grupo 4), enquanto que os homólogos de *degP* apresentaram altos valores de indução (*mucD*-grupo 2 e *htrA*-grupo 3).

Genes envolvidos na biossíntese de proteínas

Durante o choque térmico, foi observada a repressão de nove genes codificando proteínas ribossômicas (*rplV*, *rplP*, *rpsQ*, *rplN*, *rplX*, *rpsE*, *rplO*, *rplJ* ; grupo 5 e *rpsD* - grupo 6) e quatro genes codificando aminoacil-tRNA sintetases (*tyrS*, *proS*, *thrS*, *hisS* - grupo 5), indicando um desligamento na expressão da maquinaria de síntese protéica . Em *E. coli*, a regulação da síntese de RNA ribossômico é provocada por mudanças na concentração intracelular de ppGpp. Sob condições de limitação de aminoácidos e acúmulo de tRNAs não-carregados, RelA, que é a sintetase de ppGpp é induzida e os altos níveis de ppGpp levariam à redução da transcrição a partir dos promotores de rRNA (Paul *et al.*, 2004). É interessante

notar que genes *relA* e *spoT*, envolvidos no metabolismo de ppGpp foram induzidos no choque térmico em *X. fastidiosa* (grupo 3). Corroborando estes fatos, foi recentemente demonstrado que a capacidade de σ^{32} competir com σ^{70} pelo cerne da RNA polimerase é diminuída em células sem ppGpp (Jishage *et al.*, 2002).

Elementos genéticos móveis

Durante toda a série temporal de choque térmico, foi observada a indução de um grupo de genes do mega-plasmídeo pXF51 (XFa0047, XFa0049 a XFa0052 – grupo2, e XFa0048 – grupo1) codificando a *nickase* TaxC, a proteína de mobilização MobC, uma proteína hipotética, uma proteína envolvida em estabilidade StbB, outra proteína hipotética e uma proteína associada à virulência VapD, respectivamente. A proteína VapD está associada à virulência em *Dichelobacter nodosus* (Katz *et al.*, 1992) e ortólogos foram identificados em outras bactérias patogênicas, porém, sua função em *Xylella* ainda é desconhecida (Marques *et al.*, 2001). Além de genes relacionados a plasmídeos, genes dos quatro fagos que se encontram integrados no genoma de *X. fastidiosa* 9a5c foram também induzidos no choque térmico: onze genes do fago XfP1, nove genes do fago XfP2, um gene do fago XfP3 e oito genes do fago XfP4. Estes genes codificam proteínas relacionadas a fago, proteínas hipotéticas ou hipotéticas conservadas.

Metabolismo intermediário

Muitos genes relacionados à respiração aeróbica foram reprimidos durante o choque térmico em *Xylella*, principalmente após a exposição prolongada a altas temperaturas. Por exemplo, os genes *nuoA*, *nuoD*, *nuoH* e *nuoL* (grupo5), que codificam subunidades da NADH desidrogenase; genes relacionados ao ciclo do TCA (*sucB*, *sucC* e *sucD* - grupo 6), à glicólise (*pfk6* e *gapA5* – grupo 5) e à síntese de ATP (*atpH*, *atpF* e *atpE* - grupo 6) foram reprimidos durante o choque térmico.

Com relação à cadeia de transporte de elétrons, os genes codificando a Citocromo O ubiquinol oxidase também foram reprimidos (*cyoD*, *cyoC*, *cyoB* - grupo 6). Durante o choque térmico, o aumento na temperatura parece causar um declínio na pressão de oxigênio devido à diminuição da sua solubilidade dos gases, como já foi descrito em estudos em *Campylobacter jejuni* (Stintzi, 2003) and *Neisseria meningitidis* (Guckenberger *et al.*, 2002). Além disso, foi observada a indução de *cycJ* e *ccmB* (grupo 3), genes envolvidos na biogênese do Citocromo C, que têm sido descritos como sendo induzidos em condição de baixa concentração de oxigênio (Thony-Meyer *et al.*, 1995).

Genes relacionados ao metabolismo de ferro

Outro indício para a hipótese de baixa concentração de oxigênio durante o choque térmico foi a observação de que o gene XF0932 (grupo 4), relacionado ao transporte de íon ferroso, foi induzido durante o estresse de temperatura. Como o íon ferroso é mais estável em condições de baixa concentração de oxigênio e pode ser imediatamente utilizado pela bactéria (Andrews *et al.*, 2003), *Xylella* poderia favorecer este sistema de transporte durante o choque térmico. Além disso, o gene *bfr* (grupo 6), que codifica uma bacterioferritina, revelou-se reprimido. Esta proteína atua no armazenamento de ferro e auxilia no aumento da aerotolerância por sequestrar o ferro e limitar o estresse oxidativo que pode resultar de uma reação de Fenton (Smoot *et al.*, 2001; Andrews *et al.*, 2003).

Patogenicidade, virulência e adaptação

Além da indução de *degP* e *vapD*, outros genes relacionados à patogenicidade, virulência e adaptação mostraram-se diferencialmente expressos durante o choque térmico. Observou-se a indução de dois genes codificando exotoxinas formadoras de poro, da família RTX (Meidanis *et al.*, 2002): uma hemolisina (XF0668 – grupo 4) e uma bacteriocina (XF2407- grupo 4). Estas toxinas são secretadas via sistema de secreção do tipo I e se inserem

na membrana da célula hospedeira ou de outra bactéria (Gentshev *et al.*, 2002). Além disso, dois genes envolvidos na secreção de hemolisinas (XF2397 e XF2398 – grupo 4) foram induzidos. O aumento nos níveis de mRNA de hemolisinas com o aumento da temperatura também foi descrito em *Borrelia burgdorferi* (Ojaimi *et al.*, 2003) e *Streptococcus* do grupo A (Smoot *et al.*, 2001), que são patógenos de mamíferos. O aumento da expressão do gene da bacteriocina durante o choque térmico pode auxiliar na sobrevivência de *Xylella* em condições de estresse, garantindo vantagens competitivas. É interessante notar que a expressão de genes relacionados à produção de colicinas foi reduzida no choque térmico: o gene do precursor da colicina V (*cvaC*) e da proteína de secreção de colicina (*cvaA*) foram reprimidas aos 45 minutos de choque térmico.

Dois genes que codificam enzimas provavelmente envolvidas na degradação de xilano foram induzidas durante o choque térmico em *Xylella*: XF0878 (polissacarídeo desacetilase – grupo 2) e XF2395 (acetilxilano esterase – grupo 2). Xilano é o componente majoritário da hemicelulose das paredes celulares de plantas (Collins *et al.*, 2005), que podem ser degradadas pelas enzimas acima para o fornecimento de carbono ou para facilitar a migração da bactéria entre os vasos do xilema.

Um conjunto de seis genes relacionados ao sistema de secreção do tipo II foi induzido durante o estresse térmico: *xpsE* (XF1517 - grupo 2), *xpsF* (XF1518 - grupo 2), *xpsH* (XF1520– grupo 4), *xpsJ* (XF1522 - grupo 3), *pefL* (XF1524 - grupo4) and *xpsM* (XF1525 - grupo4). Dentre eles, *xpsE* e *xpsF* (grupo 2) são membros da família de exportadores de fimbriolina. Eles apresentaram uma indução de aproximadamente 3 vezes após 25 minutos de choque térmico (grupo 2) enquanto que os outros genes do sistema de secreção do tipo II foram induzidos principalmente após 45 minutos de choque térmico e apresentaram valores modestos de indução (aproximadamente 1,5 vezes). O sistema de secreção do tipo II está envolvido na exportação de diferentes fatores de virulência como toxinas e enzimas hidrolíticas (Sandkvist, 2001). Coerente com a indução do sistema de secreção do tipo II, foi

observada também a indução de alguns genes do sistema Sec (*secA*, *secF* e *secG*) que atua na translocação de proteínas do citoplasma para o periplasma.

Observou-se ainda a indução de genes relacionados a adesinas não relacionadas à fimbria: genes codificando proteínas secretadas semelhantes à hemaglutinina, (XF2196 - grupo2 e XF2775 -grupo3) e à adesina *uspA1* (XF1516 - grupo3). É interessante notar que o gene *uspA1* foi descrito como expresso em níveis mais elevados em células de *X. fastidiosa* recém isoladas da planta do que em culturas que se tornaram menos virulentas após diversas passagens, indicando um possível papel deste gene na virulência (de Souza *et al.*, 2003). Com relação a genes relacionados à hemaglutinina, um estudo recente na cepa Temecula de *X. fastidiosa* mostrou que mutantes nesses genes provocaram sintomas mais graves em videiras do que a cepa selvagem, ao contrário do que se mostrou em outras bactérias patogênicas, onde os mutantes mostraram-se menos virulentos (Guilhabert & Kirkpatrick, 2005). Os autores sugerem que, em *Xylella*, as hemaglutininas atuam na atenuação da capacidade de colonização, apesar de apresentarem um papel na agregação celular para formação de colônias e contribuírem para a formação do biofilme.

Além disso, *phoQ* (XF0390 - grupo 4) e *colR* (XF2336 - grupo 2, e XF2354 - grupo 3), que são genes relacionados a sistemas de dois componentes, foram induzidos no choque térmico em *Xylella*. É interessante notar que o sistema PhoPQ é necessário para a virulência em diversas bactérias como *Salmonella*, *Yersinia* e o fitopatógeno *Erwinia carotovora* (Groisman, 2001). O gene *colR* também foi caracterizado como relacionado à patogenicidade em *Pseudomonas fluorescens*, visto que mutações em *colR* impedem a colonização do hospedeiro (Dekkers *et al.*, 1998). O gene XF1020 (grupo 4) que codifica uma proteína relacionada à virulência também apresentou aumento nos níveis de transcrito durante o choque térmico. Mutações no seu ortólogo em *Xanthomonas campestris* resultaram na redução da virulência, apesar da sua função ainda ser desconhecida (Osbourn *et al.*, 1990).

3.2. Estresse salino e osmótico

3.2.1. Análise global da expressão gênica durante o choque salino e osmótico

As condições de estresse utilizadas nos experimentos de choque salino e osmótico foram determinadas a partir de curvas de crescimento com concentrações de NaCl que variaram de 0 a 250 mM e de sacarose de 0 a 300 mM, além de análise de sobrevivência das células. Inicialmente, utilizou-se a concentração de NaCl 85 mM e sacarose 150 mM, concentração na qual as culturas de *X. fastidiosa* atingiram aproximadamente metade da DO observada na cultura controle após 8 dias de incubação a 29°C (Figura 18). Foram extraídas amostras de RNA após 30 e 60 minutos de incubação das bactérias nestas concentrações de sal e sacarose, porém, os ensaios de microarranjos de DNA não indicaram diferença de expressão entre as amostras teste e controle.

Foram realizados ensaios para verificar a sobrevivência após choque salino ou osmótico por diferentes intervalos de tempo. Adicionou-se NaCl ou sacarose nas concentrações de 100mM, 200mM, 300mM por 0, 7, 15, 25 e 45 minutos e em seguida, uma alíquota dessa cultura foi plaqueada em PW ágar. Devido ao crescimento lento e agregado de *Xylella*, a obtenção de colônias isoladas para contagem de unidades formadoras de colônias é um processo muito difícil e demorado. Foi feito então um ensaio semiquantitativo, verificando a maior ou menor sobrevivência nas placas, como indicado na Tabela 5.

Com base nos resultados obtidos, decidiu-se utilizar nos experimentos de microarranjos de DNA a concentração máxima testada nas curvas de crescimento (Figura 18), onde as células não cresceram mas mantiveram-se viáveis, apesar de apresentarem crescimento reduzido (Tabela 5). O estresse osmótico tem sido classicamente estudado em diversas bactérias verificando-se a expressão após a adição de NaCl, porém, sabe-se que, além do estresse osmótico, o NaCl pode causar efeitos tóxicos para a célula. Desta forma, estudando o perfil de expressão gênica induzido por NaCl e por sacarose, é possível determinar os genes relacionados a resposta ao estresse salino e ao estresse osmótico.

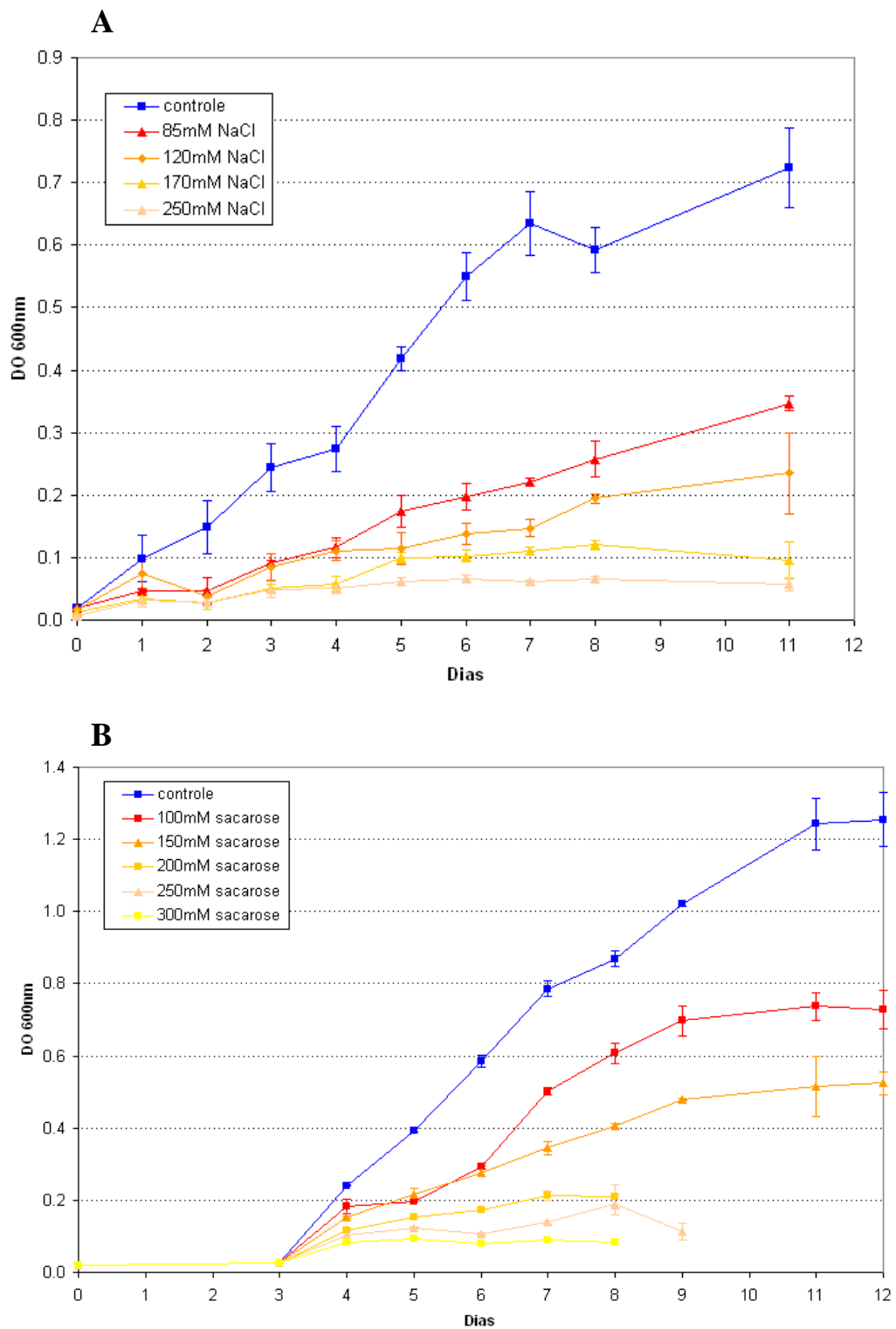


Figura 18: Curvas de crescimento de *X. fastidiosa* cepa 9a5c em meio PW, na presença de diferentes concentrações de NaCl (A) ou sacarose (B). Os pontos representam a média de pelo menos 3 medidas de absorbância a 600 nm.

Tabela 5: Sobrevivência após choque salino (A) ou choque osmótico (B). A formação de colônias nas placas foi observada 1 mês após o plaqueamento.

A. Sobrevivência após choque salino.

[NaCl]	Tempo de choque salino				
	controle	7 min	15 min	25 min	45 min
100 mM	+++++	++++	+++	++	+
200 mM	+++++	+++	++	+	+
300 mM	+++++	+++	+++	++	+

B. Sobrevivência após choque osmótico.

[sacarose]	Tempo de choque osmótico				
	controle	7 min	15 min	25 min	45 min
100 mM	+++++	++++	++++	+++	++
200 mM	+++++	++++	+++	++	++
300 mM	+++++	++++	++	++	+

Legenda:

- +: poucas colônias isoladas
- ++: muitas colônias isoladas
- +++ : placas confluentes, baixa densidade
- ++++: placas confluentes, média densidade
- +++++: placas confluentes, alta densidade

Para determinar as mudanças na expressão gênica de *X. fastidiosa* cepa 9a5c em resposta ao choque osmótico e salino, foram realizados experimentos em uma série temporal, adicionando-se às culturas crescidas por 7 dias a 29°C em meio PW (fase exponencial), sacarose na concentração final de 300 mM e NaCl 250 mM, respectivamente. Amostras de células foram coletadas para extração de RNA após diferentes tempos de incubação a 29°C (0, 7, 15, 30 e 60 min). Após a síntese e marcação do cDNA, as amostras foram hibridizadas nos microarranjos de DNA, utilizando como referência a cultura na ausência de NaCl ou sacarose (tempo zero). Foram classificados como diferencialmente expressos os genes que em pelo menos 80% das réplicas estivessem fora do intervalo de credibilidade definido pelos experimentos homotípicos, utilizando-se no mínimo 3 réplicas biológicas independentes, conforme descrito em Material e Métodos.

Na presença de NaCl, foram encontrados 334 genes com expressão aumentada e 166 genes com expressão diminuída em pelo menos um dos tempos de incubação. Já em sacarose, 186 genes foram induzidos e 79 genes foram reprimidos, em pelo menos um dos tempos de incubação. Dentre os genes induzidos, 142 são comuns aos dois estresses (salino e osmótico) e apenas 38 são comuns entre os genes reprimidos. Na Tabela 6, indicamos o número de genes diferencialmente expressos somente em NaCl, somente em sacarose, bem como o número de genes comuns aos dois tratamentos, para cada um dos tempos de estresse considerados.

Tabela 6: Número de genes diferencialmente expressos somente em NaCl, somente em sacarose e comuns aos dois estresses, em cada um dos tempos de estresse e considerando todos os tempos analisados. (A) Genes induzidos (B) Genes reprimidos.

A. Genes com expressão aumentada

Tempo (min)	Somente em NaCl	NaCl e sacarose	Somente em sacarose
7	39	14	7
15	113	57	27
30	113	46	37
60	202	72	23
Todos os tempos	192	142	44

B. Genes com expressão diminuída

Tempo (min)	Somente em NaCl	NaCl e sacarose	Somente em sacarose
7	1	1	8
15	16	0	5
30	64	11	22
60	109	27	27
Todos os tempos	128	38	41

Dentre os genes diferencialmente expressos, 194 originalmente classificados como hipotéticos ou hipotéticos conservados foram reanotados utilizando as ferramentas BlastP (Altschul *et al.*, 1997) e Pfam (Bateman *et al.*, 2004). Um total de 56 genes tiveram uma provável função atribuída com base na anotação eletrônica e 138 genes codificando proteínas

hipotéticas foram classificados como proteínas hipotéticas conservadas. Uma lista completa dos genes diferencialmente expressos está disponível no site do projeto e nas Tabela S6 e S7 (NaCl) e Tabelas S8 e S9 (sacarose). Além disso, o mapa do genoma de *X. fastidiosa* e mapas do KEGG das vias metabólicas coloridos de acordo com a expressão (induzidos / reprimidos / sem alteração) estão disponíveis no site do projeto.

A classificação funcional dos genes diferencialmente expressos de acordo com o banco de dados do genoma de *X. fastidiosa* está apresentada nas Figuras 19 e 20, para NaCl e sacarose, respectivamente. Os níveis dos transcritos de genes codificando muitas proteínas hipotéticas e hipotéticas conservadas apresentaram-se alterados no choque osmótico e salino. Dentre os genes induzidos por NaCl, 54,8% (183 genes) codificam proteínas hipotéticas e hipotéticas conservadas, enquanto no estresse causado por sacarose, a proporção destes genes é de 56,9% (106 genes). Dentre os 142 genes induzidos nos dois estresses, 57% são hipotéticos ou hipotéticos conservados (81 genes), números altos considerando que a proporção de genes hipotéticos no genoma é de aproximadamente 50%. Dentre os genes reprimidos, a proporção de genes hipotéticos apresentada foi baixa, 22,9% em NaCl (38 genes) e 26,6% em sacarose (21 genes).

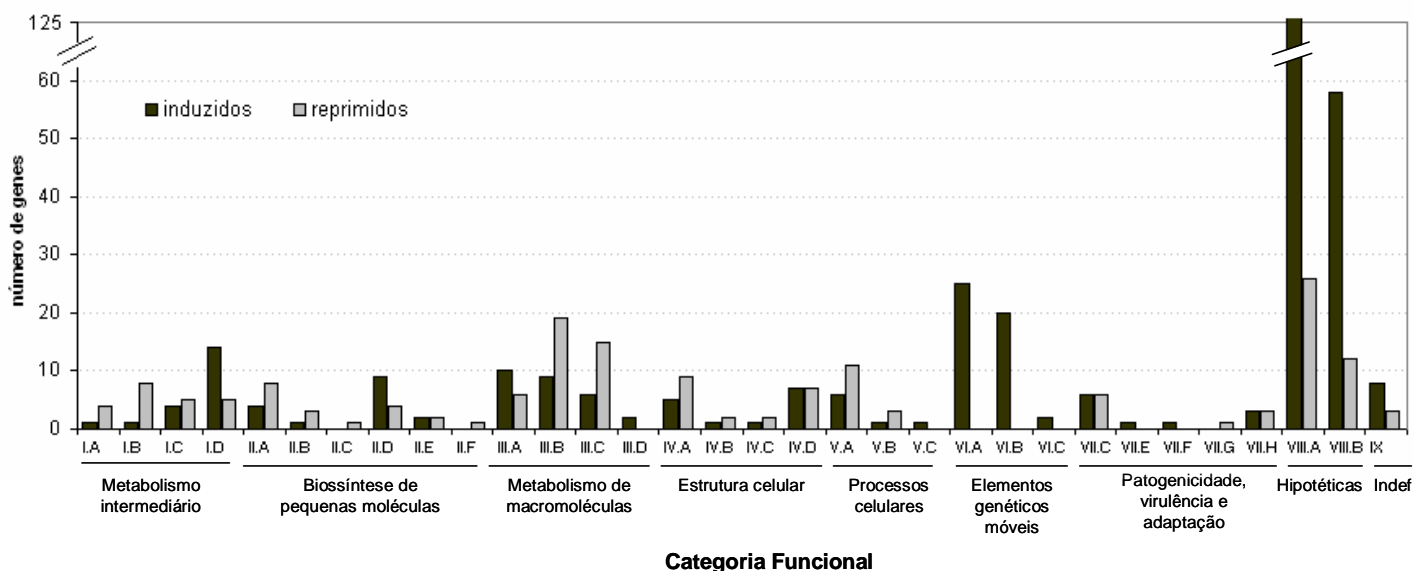


Figura 19: Genes diferencialmente expressos no estresse causado por NaCl, agrupados por categorias funcionais, de acordo com o banco de dados de *X. fastidiosa*. As colunas pretas representam o número de genes induzidos e as cinzas, os genes reprimidos durante o estresse salino. Categoria I: Metabolismo intermediário, I.A: Degradação, I.B: Metabolismo Intermediário Central, I.C: Metabolismo energético, I.D: Funções regulatórias. Categoria II: Biossíntese de pequenas moléculas, II.A: Biossíntese de aminoácidos, II.B: Biossíntese de nucleotídeos, II.C: Biossíntese de açúcares, II.D: Cofatores, grupos prostéticos, biossíntese de carregadores, II.E: Biossíntese de ácidos graxos e ácido fosfatídico. II.F: Biossíntese de poliaminas. Categoria III: Metabolismo de macromoléculas, III.A: Metabolismo de DNA, III.B: Metabolismo de RNA, III.C: Metabolismo de proteína, III.D: Metabolismo de outras macromoléculas. Categoria IV: Estrutura Celular, IV.A: Componentes de membrana, IV.B. Peptidoglicano, IV.C: Polissacarídeos de superfície, lipopolissacarídeos e antígenos, IV.D: Estruturas de superfície. Categoria V: Processos Celulares, V.A: Transporte, V.B: Divisão celular, V.C: Quimiotaxia e motilidade. Categoria VI: Elementos genéticos móveis, VI.A: Funções relacionadas a fagos, VI.B: Funções plasmidiais, VI.C: Transposon e funções intrônicas. Categoria VII: Patogenicidade, virulência e adaptação. VII.C: Produção de toxinas e detoxificação, VII.E: Exopolissacarídeos, VII.F: Proteínas de superfície, VII.G: Adaptação a condições atípicas, VII.H. Outros. Categoria VIII: Proteínas hipotéticas, VIII.A: Proteínas hipotéticas conservadas, VIII.B: Proteínas hipotéticas. Categoria IX: ORFs com categoria indefinida

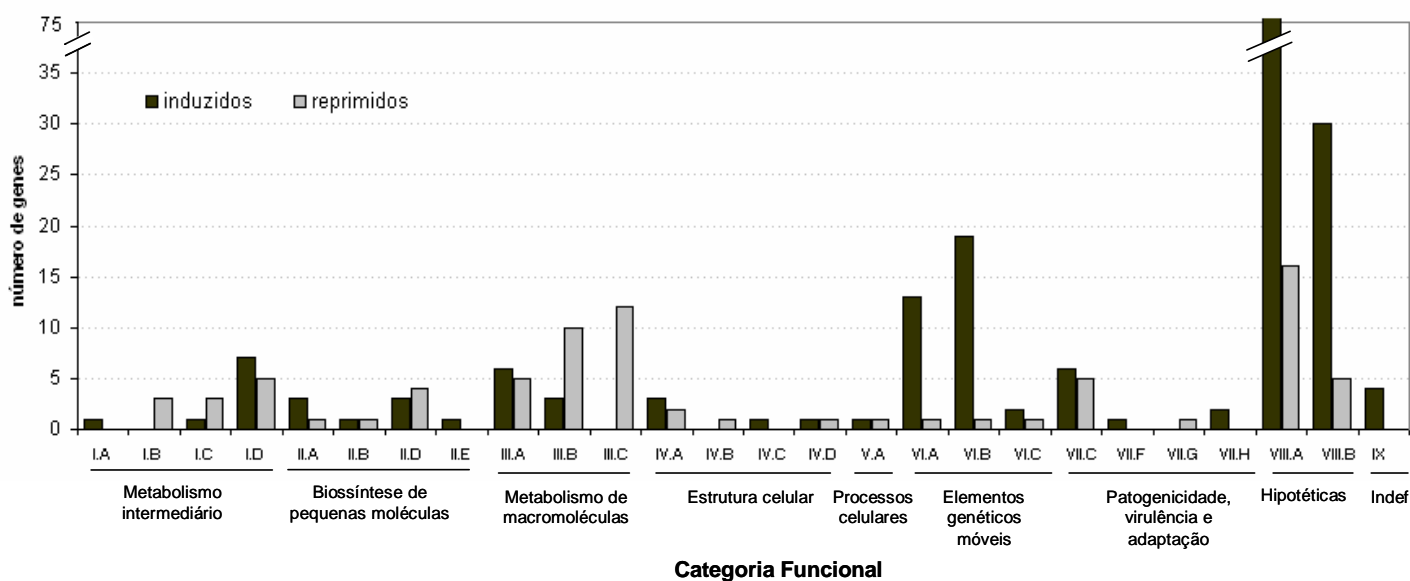


Figura 20: Genes diferencialmente expressos no estresse causado por sacarose, agrupados por categorias funcionais, de acordo com o banco de dados de *X. fastidiosa*. As colunas pretas representam o número de genes induzidos e as cinzas, os genes reprimidos durante o estresse osmótico. Categoria I: Metabolismo intermediário, I.A: Degradação, I.B: Metabolismo Intermediário Central, I.C: Metabolismo energético, I.D: Funções regulatórias. Categoria II: Biossíntese de pequenas moléculas, II.A: Biossíntese de aminoácidos, II.B: Biossíntese de nucleotídeos, II.D: Cofatores, grupos prostéticos, biossíntese de carregadores, II.E: Biossíntese de ácidos graxos e ácido fosfatídico. Categoria III: Metabolismo de macromoléculas, III.A: Metabolismo de DNA, III.B: Metabolismo de RNA, III.C: Metabolismo de proteína. Categoria IV: Estrutura Celular, IV.A: Componentes de membrana, IV.B. Peptidoglicano, IV.C: Polissacarídeos de superfície, lipopolissacarídeos e antígenos, IV.D: Estruturas de superfície. Categoria V: Processos Celulares, V.A: Transporte. Categoria VI: Elementos genéticos móveis, VI.A: Funções relacionadas a fagos, VI.B: Funções plasmidiais, VI.C: Transposon e funções intrônicas. Categoria VII: Patogenicidade, virulência e adaptação. VII.C: Produção de toxinas e detoxificação, VII.F: Proteínas de superfície, VII.G: Adaptação a condições atípicas, VII.H. Outros. Categoria VIII: Proteínas hipotéticas, VIII.A: Proteínas hipotéticas conservadas, VIII.B: Proteínas hipotéticas. Categoria IX: ORFs com categoria indefinida

3.2.2. Série temporal

Para obter uma visão dos perfis de expressão, ao longo do tempo, dos genes que apresentaram expressão diferencial durante o choque osmótico ou choque salino, foi feito um agrupamento dos perfis de expressão dos genes utilizando o algoritmo *K-means* com 5 grupos. O número de grupos foi determinado através da análise de componentes principais, como ilustrado na Figura 21. Usualmente, as componentes são ordenadas de acordo com a sua contribuição para a variabilidade total (variância). Calculou-se então a diferença entre as componentes sucessivas (delta autovalor) para descobrir quando esta torna-se praticamente zero, ou seja, não há mais diferença relevante entre as componentes. O gráfico mostra que não há contribuição relevante após a 5ª componente, tanto nos dados de NaCl quanto em sacarose, indicando que teoricamente, não é necessário utilizar mais do que 5 grupos.

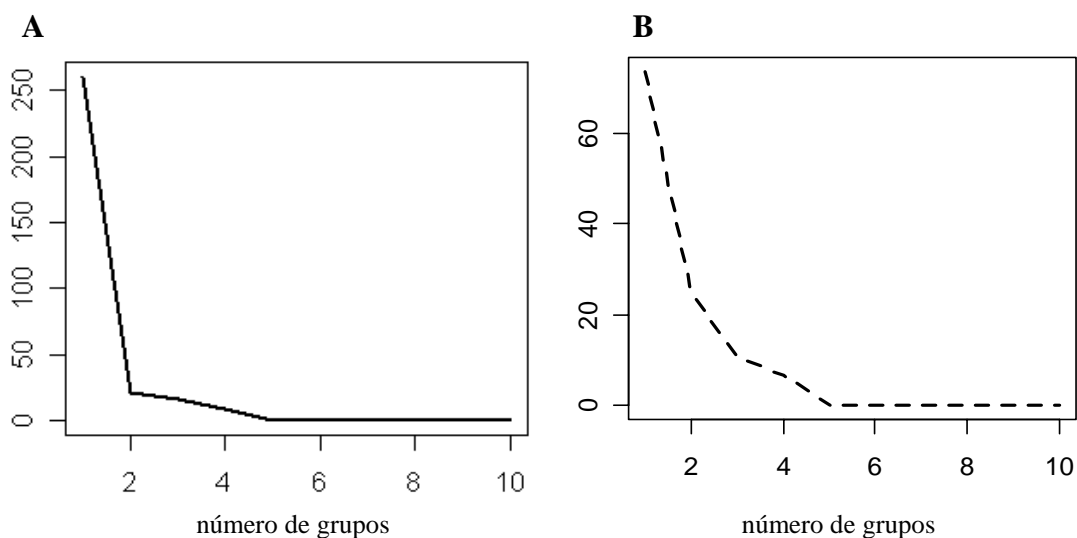
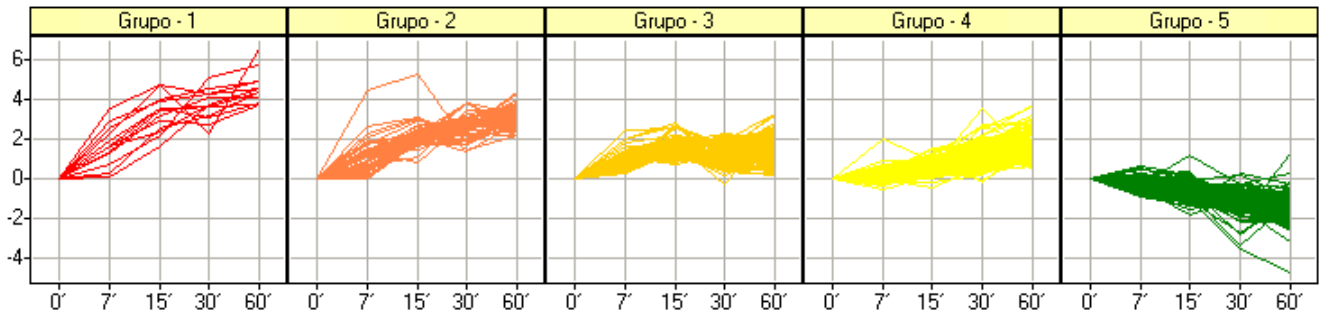


Figura 21: Análise de componentes principais para os dados de NaCl (A) e sacarose (B). O eixo x mostra o número de grupos e o eixo y, o delta autovalor, ou seja, a diferença entre as componentes principais sucessivas. Observa-se que, nos dois gráficos não há diferença entre a 6ª e 5ª componente, indicando que, teoricamente, não é necessário utilizar mais do que 5 grupos. Este número de grupos foi utilizado como entrada no algoritmo *K-means* de agrupamento.

Para caracterizar cada um dos grupos com base nas categorias funcionais, foi feita uma busca pelas categorias mais representadas em cada grupo. Nas Figuras 22 e 23, mostramos o agrupamento utilizando *K-means* para os genes diferencialmente expressos em NaCl e sacarose, respectivamente, juntamente com uma tabela indicando as categorias funcionais mais representadas em cada grupo. O grande número de genes que codificam proteínas hipotéticas ou hipotéticas conservadas e que mostraram ser diferencialmente expressos durante os estresses fica novamente evidente nestas análises. A lista completa dos genes em cada grupo está nas Tabelas S10 e S11. De maneira geral, o estresse por sacarose apresentou níveis menores de indução do que os observados no tratamento com NaCl.

No estresse causado por NaCl (Figura 22), o grupo 1 no qual se observou os maiores valores de indução não apresentou nenhuma categoria funcional altamente representada. Este grupo é composto por 13 genes (Tabela 7), dos quais 5 fazem parte do mega-plasmídeo pXF51: dois estão envolvidos na replicação plasmidial e o restante codificam proteínas hipotéticas ou hipotéticas conservadas. Ainda no grupo 1, encontram-se genes codificando uma proteína sensora de um sistema de dois componentes, uma provável oxidoreductase, uma proteína relacionada a fago, uma antranilato sintase, uma proteína de membrana e três proteínas hipotéticas ou hipotéticas conservadas. Já o grupo 2 apresentou muitos genes codificando proteínas hipotéticas e hipotéticas conservadas, além de genes relacionados a funções plasmidiais. Os genes do grupo 3 apresentaram uma pequena queda nos valores de M aos 30 minutos de estresse. Neste grupo, além de genes codificando proteínas hipotéticas, observamos a presença de 6 genes relacionados ao metabolismo de DNA e 3 genes relacionados à patogenicidade, virulência e adaptação. O grupo 4 apresentou indução principalmente aos 30 e 60 minutos de choque salino e agrupa diversos genes relacionados a fagos e 11 ORFs com categoria indefinida. Por outro lado, no grupo 5, estão presentes a maioria dos genes que foram reprimidos em algum dos tempos de estresse, incluindo genes relacionados ao metabolismo intermediário com destaque para o metabolismo energético e

metabolismo intermediário central, além de genes relacionados ao metabolismo de macromoléculas como genes que codificam as proteínas ribossômicas e genes envolvidos no metabolismo de proteínas como chaperones e proteases. Genes relacionados à estrutura celular, incluindo componentes da membrana e membrana externa e genes relacionados a transporte também estão altamente representados no grupo 5.



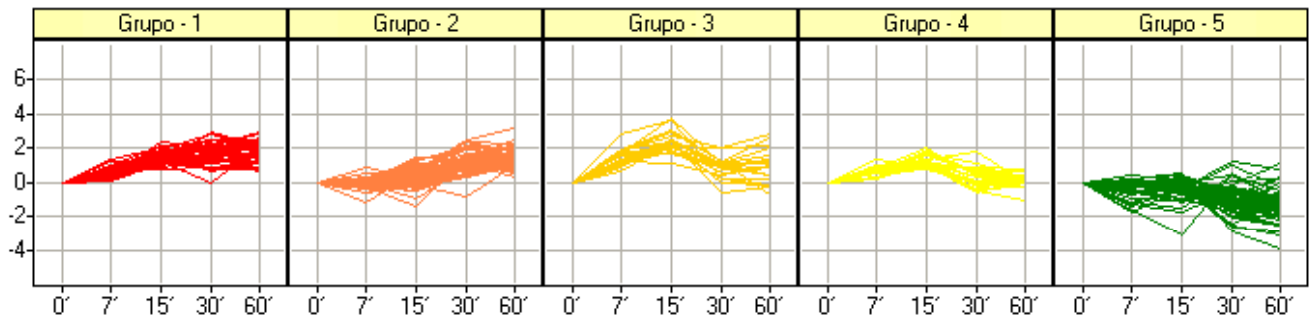
<i>Grupo</i>	<i>Categorias Funcionais altamente representadas</i>
1	Nenhuma categoria
2	Elementos genéticos móveis, Funções plasmidiais, Proteínas hipotéticas e hipotéticas conservadas
3	Proteínas hipotéticas, Metabolismo de DNA, Patogenicidade, virulência e adaptação
4	Proteínas hipotéticas e hipotéticas conservadas, Elementos genéticos móveis, Genes relacionados a fago, ORFs com categoria indefinida
5	Degradação de pequenas moléculas, Metabolismo intermediário central, Metabolismo energético, Biossíntese de pequenas moléculas, Metabolismo de RNA e proteínas, Componentes de membrana, Componentes de membrana externa, Transporte, Divisão celular

Figura 22: Agrupamento dos genes diferencialmente expressos em NaCl 250mM. O algoritmo utilizado foi o *K-means* com 5 grupos, utilizando os perfis de expressão dos genes que apresentavam a série temporal completa. O eixo y mostra os valores de M ($M = \log_2(\text{NaCl}/\text{controle})$) e o eixo x mostra os tempos de choque salino. A tabela mostra as categorias funcionais altamente representadas em cada um dos grupos. Uma categoria funcional foi considerada como altamente representada se a sua presença no grupo fosse significativa ($P < 0.05$).

Tabela 7: Genes com os maiores níveis de indução durante o choque salino (grupo 1 no agrupamento *K-means*)

Gene	Função	Nome do gene	Indução			
			7 min	15 min	30 min	60 min
XF0323	Proteína sensora de sistema de dois componentes	<i>tctE</i>	7.3	14.6	18.9	22.3
XF0391	Proteína hipotética		3.8	11.6	12.4	13.0
XF0493	Proteína hipotética conservada		1.6	4.3	33.8	52.7
XF0529	Proteína hipotética conservada		2.6	11.1	11.9	20.3
XF1594	Proteína relacionada a fago		3.1	5.1	13.3	23.6
XF1915	Antranilato sintase, componente II	<i>trpG</i>	11.2	26.2	4.9	91.8
XF2257	Provável proteína de membrana	<i>yebN</i>	3.1	11.3	8.2	13.8
XF2390	Provável oxidoreductase		4.8	25.3	18.5	30.1
XFa0021	Proteína hipotética		1.2	5.7	8.7	20.5
XFa0054	Proteína hipotética conservada		3.0	7.5	6.5	13.1
XFa0059	Proteína de replicação/partição de plasmídeo	<i>spoOJ</i>	1.1	3.1	13.5	23.3
XFa0060	Proteína de replicação de plasmídeo	<i>incC</i>	2.3	8.9	16.4	17.0
XFa0064	Proteína hipotética conservada		5.8	15.6	22.3	29.7

No estresse osmótico causado pela adição de sacarose (Figura 23), observou-se no grupo 1 a alta representação de genes codificando proteínas hipotéticas. No grupo 2, que apresentou indução principalmente após os 15 minutos de estresse, verificou-se a alta incidência de genes relacionados a funções plasmidiais e outros elementos genéticos móveis, além de ORFs com categoria indefinida. No grupo 3, que apresentou um pico de indução aos 15 minutos, seguido por uma queda aos 30 minutos, e um novo aumento ou manutenção dos níveis aos 60 minutos de estresse, apenas a categoria de genes codificando proteínas hipotéticas e hipotéticas conservadas foram altamente representadas. Este grupo apresentou os maiores níveis de indução e estão mostrados na Tabela 8. O grupo 4 também apresentou um pico de indução aos 15 minutos, porém, com valores que atingem no máximo 4 vezes, seguido por uma redução a níveis iguais ao da amostra controle. Neste grupo, foram altamente representadas as categorias de genes relacionados a fagos. No grupo 5, estão agrupados os genes que apresentaram diminuição nos seus níveis em pelo menos um dos tempos de estresse osmótico. Estes genes estão principalmente relacionados ao metabolismo intermediário, com destaque para o metabolismo intermediário central e metabolismo energético, além de metabolismo de macromoléculas como genes relacionados à restrição do DNA, proteínas ribossomais e chaperones. Outras categorias representadas neste grupo foram a de transporte e adaptação a condições atípicas.



<i>Grupo</i>	<i>Categorias Funcionais altamente representadas</i>
1	Proteínas hipotéticas
2	Elementos genéticos móveis, funções plasmidiais, ORFs com categoria indefinida
3	Proteínas hipotéticas e hipotéticas conservadas
4	Genes relacionados a fago, Aminoacil-tRNA sintetases
5	Metabolismo intermediário central, Metabolismo energético, Biossíntese de cofatores e grupos prostéticos, Restrição e modificação do DNA, Metabolismo de RNA, Metabolismo de proteínas, Transporte, Adaptação a condições atípicas

Figura 23: Agrupamento dos genes diferencialmente expressos em sacarose 300mM. O algoritmo utilizado foi o *K-means* com 5 grupos, utilizando os perfis de expressão dos genes que apresentavam a série temporal completa. O eixo y mostra os valores de M ($M = \log_2(\text{sacarose/control})$) e o eixo x mostra os tempos de choque osmótico. A tabela mostra as categorias funcionais altamente representadas em cada um dos grupos. Uma categoria funcional foi considerada como altamente representada se a sua presença no grupo fosse significativa ($P < 0.05$).

Tabela 8: Genes com os maiores níveis de indução durante o choque osmótico (grupo 3 no agrupamento *K-means*)

Gene	Função	Nome do gene	Indução			
			7 min	15 min	30 min	60 min
XF0112	Proteína hipotética		2.3	2.2	1.4	2.0
XF0154	Proteína hipotética conservada		2.0	5.7	1.7	1.8
XF0250	Proteína hipotética conservada		3.2	3.8	1.2	1.1
XF0323	Proteína sensora de sistema de dois componentes	<i>tctE</i>	3.9	8.5	2.3	6.2
XF0529	Proteína hipotética conservada		1.5	5.1	2.0	2.5
XF0531	Proteína hipotética conservada		2.1	3.5	1.9	1.9
XF0663	Proteína hipotética conservada		2.4	4.3	1.4	1.9
XF0667	Proteína hipotética conservada		2.2	5.0	0.7	0.8
XF0787	Proteína hipotética conservada		2.4	5.6	1.7	2.5
XF0808	Proteína hipotética		3.4	3.3	1.8	1.3
XF0953	GTP ciclohidrolase II/3,4-dihidroxi-2-butanone 4-fosfato sintase	<i>ribA</i>	3.8	5.3	1.0	0.9
XF1249	Proteína hipotética conservada		2.9	3.2	2.0	2.4
XF1528	Proteína hipotética conservada		3.6	7.8	2.3	0.6
XF1705	Proteína relacionada a fago		2.6	5.8	2.2	4.2
XF1915	Antranilato sintase, componente II	<i>trpG</i>	7.1	12.6	1.1	0.9
XF1917	Proteína hipotética conservada		1.9	5.3	2.2	2.9
XF1973	Proteína hipotética conservada		3.1	13.2	2.2	1.3
XF1974	Proteína hipotética		3.2	4.3	4.1	4.4
XF2307	Proteína hipotética conservada		2.0	4.1	2.2	2.2

3.2.3. Validação dos perfis de expressão por RT-PCR quantitativo

Para validar os perfis de expressão, foram realizados experimentos de RT-PCR quantitativo para 7 genes selecionados, utilizando duas réplicas biológicas independentes de cada um dos tempos de choque osmótico e salino. A correlação entre os valores de razão de expressão ($M = \log_2(\text{estresse/controlado})$) obtidos nos experimentos de microarranjos de DNA e RT-PCR quantitativo foi de 0.90, indicando uma alta concordância entre os experimentos. As figuras 24 e 25 mostram os dados comparando os resultados de microarranjos e RT-PCR quantitativo para os genes selecionados na presença de NaCl e sacarose, respectivamente.

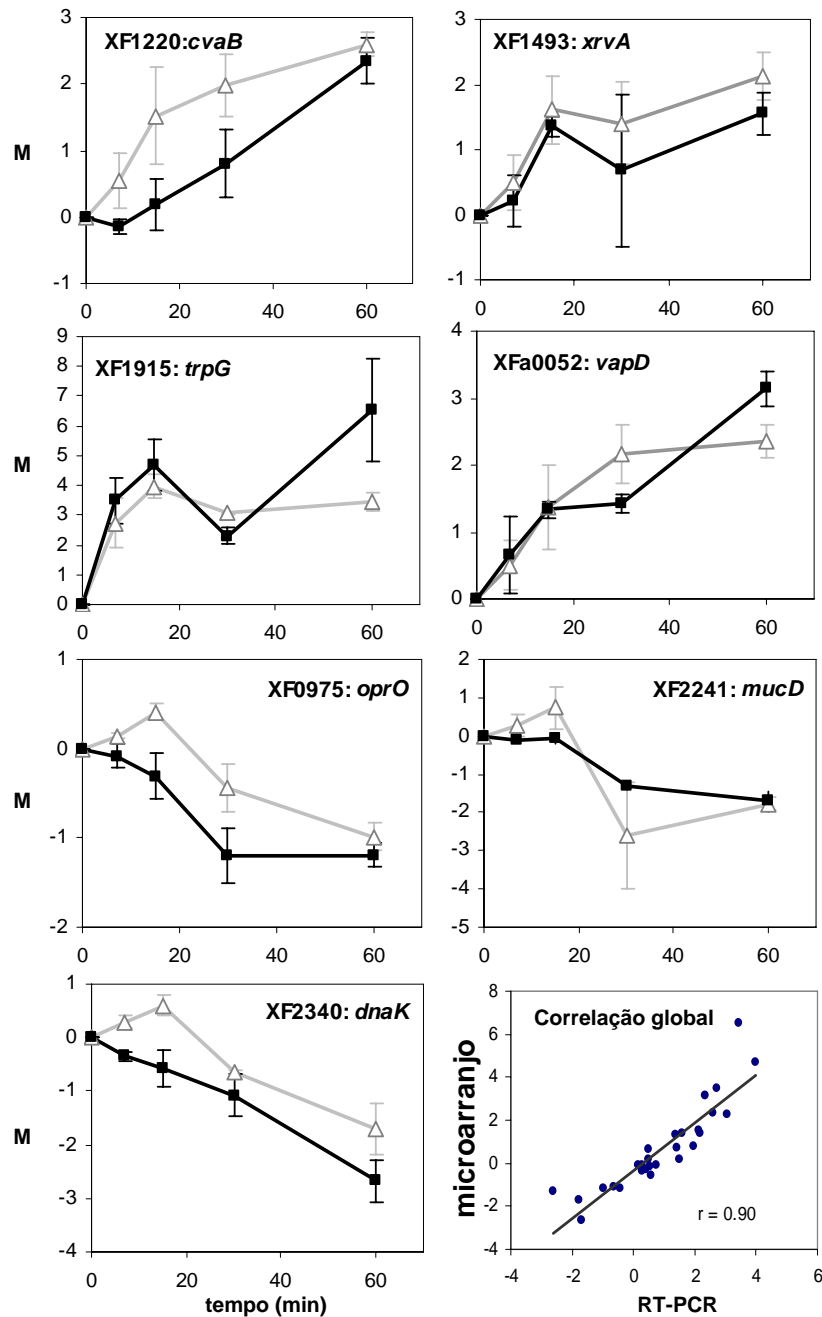


Figura 24: Níveis de expressão de 7 genes durante o estresse salino analisados por RT-PCR quantitativo (linha cinza, triângulos) e por microarranjos de DNA (linha preta, quadrados), onde $M = \log_2(\text{NaCl}/\text{controle})$. Os resultados são a mediana de três réplicas biológicas independentes para os dados de microarranjos e de duas nos experimentos de RT-PCR quantitativo. O último painel à direita mostra a correlação global dos valores de M nos experimentos de RT-PCR e de microarranjos.

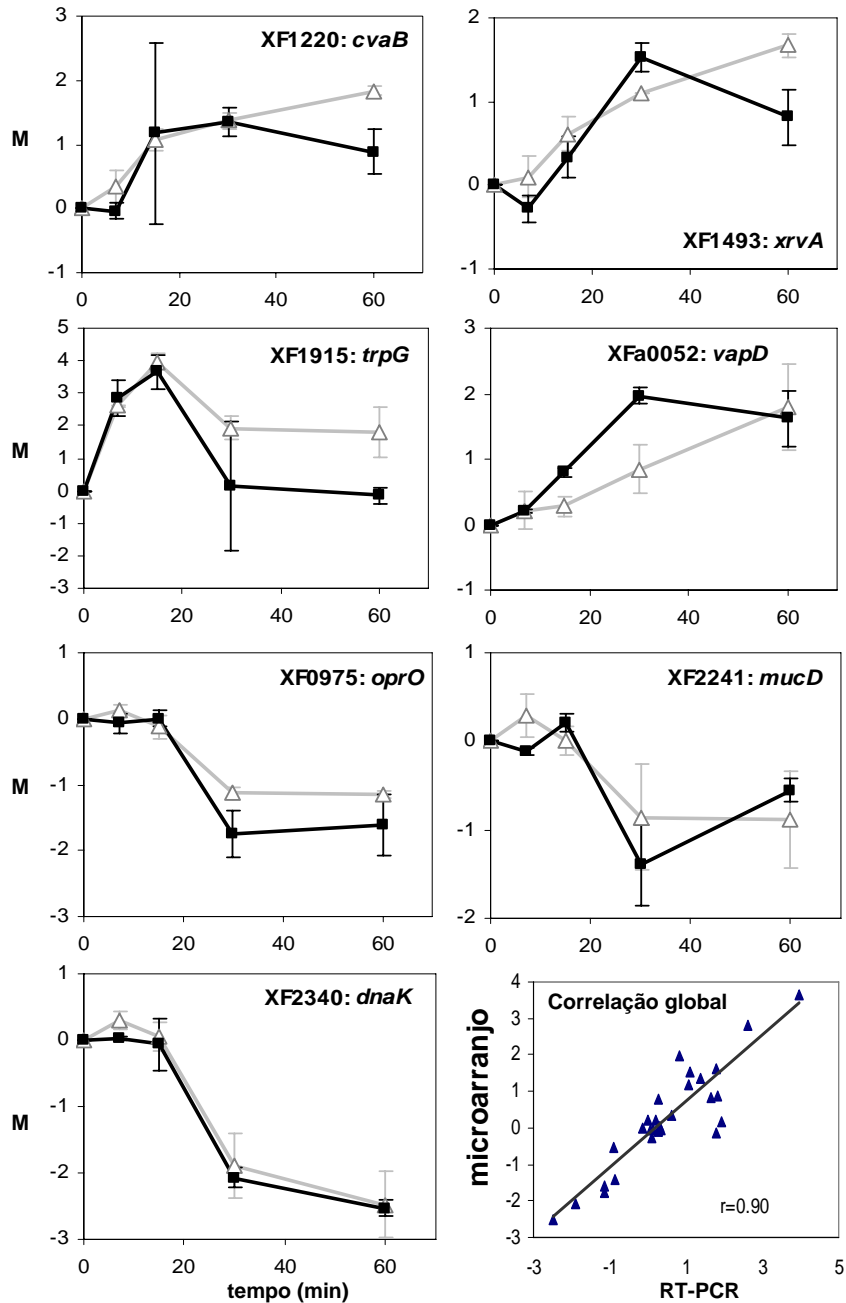


Figura 25: Níveis de expressão de 7 genes durante o estresse causado por sacarose, analisados por RT-PCR quantitativo (linha cinza, triângulos) e por microarranjos de DNA (linha preta, quadrados), onde $M = \log_2(\text{sacarose}/\text{controle})$. Os resultados são a mediana de três réplicas biológicas independentes para os dados de microarranjos e de duas nos experimentos de RT-PCR quantitativo. O último painel à direita mostra a correlação global dos valores de M nos experimentos de RT-PCR e de microarranjos.

3.2.4. Função dos genes diferencialmente expressos em condições de estresse

Genes com expressão aumentada na presença de NaCl e sacarose

O estresse osmótico pode ser causado pela adição de NaCl e sacarose, porém, o NaCl causa ainda o estresse salino devido à ação tóxica dos íons que o compõem. Desta forma, os genes induzidos nas duas condições testadas podem fornecer um panorama mais preciso sobre os genes envolvidos na resposta geral ao estresse osmótico.

Dos 142 genes que apresentaram expressão aumentada tanto por NaCl como por sacarose, 55 codificam proteínas hipotéticas conservadas e 26 proteínas hipotéticas, constituindo 57% dos genes induzidos, com diferentes padrões de expressão (grupos 1 a 4 em NaCl e sacarose). Desta forma, a maioria dos genes induzidos não apresenta função conhecida na literatura. Entretanto, com base nos dados experimentais obtidos, há fortes indícios de que estes genes devem exercer algum papel na resposta ao estresse osmótico.

Genes localizados nos fagos integrados no genoma de *X. fastidiosa* também se apresentaram induzidos na presença de NaCl e sacarose: 1 gene do fago XfP1, 5 genes do XfP3, 6 genes do XfP4 e 4 genes do XfP2. Além disso, 17 genes relacionados a funções plasmidiais, 7 localizados no cromossomo e 10 no mega-plasmídeo pXF51 também se apresentaram induzidos. É interessante notar que no total, 21 genes do mega-plasmídeo pXF51 foram induzidos, dos quais 17 são hipotéticos ou hipotéticos conservados.

Dentre os genes relacionados com patogenicidade, virulência e adaptação, dois genes que codificam proteínas com domínios de beta-lactamase foram induzidos. O gene *cvaB*, que codifica um transportador do tipo ABC envolvido na secreção de colicina V foi induzido a partir dos 15 minutos do estresse com sacarose (grupo2) e a partir dos 30 minutos em NaCl (grupo 4). É interessante notar que genes que codificam as colicinas também foram induzidos, porém, o gene XF0263 foi induzido somente em sacarose e o gene XF0264 foi induzido somente em NaCl. Em um estudo recente, relatou-se o aumento da expressão de genes

relacionados a colicina V no cultivo com altas concentrações de glicose, que também podem provocar o estresse osmótico (Pashalidis *et al.*, 2005). Observamos também a indução do gene XF0300, que codifica uma proteína de resistência a acriflavina, além do regulador de virulência *xrvA* (XF1493) e *vapD* (XFa0052), localizado no plasmídeo pXF51, que codifica uma proteína associada à virulência. É interessante notar que *xrvA* codifica uma proteína da família H-NS, proteínas semelhantes às histonas que estão envolvidas na estrutura do nucleóide e afetam a expressão gênica em algumas condições específicas. O gene *xrvA* foi implicado na virulência de *Xanthomonas oryzae*, embora sua função ainda seja desconhecida (Bertin *et al.*, 1999).

Cinco genes que codificam proteínas com funções regulatórias no metabolismo intermediário também se apresentaram induzidos: genes das proteínas sensoras de sistema de dois componentes TctE (XF0323: grupo 1 em NaCl, grupo3 em Sacarose) e PhoQ (XF0390: grupo 3 em NaCl, grupo 1 em sacarose), do repressor de transcrição KorC (XF2062: grupo 4 em NaCl e grupo 2 em sacarose), do regulador de transcrição da família AcrR (XF2085: grupo 2 NaCl grupo 2 Sacarose) e de um regulador transcricional do mega plasmídeo pXF51 (XFa0046: grupo 3 NaCl e grupo2 em sacarose). É interessante notar que o gene *phoQ* também foi induzido no choque térmico e em outras bactérias patogênicas como *Salmonella*, mutantes em *phoQ* apresentam virulência atenuada. Já reguladores da família AcrR estão relacionados com a regulação da transcrição de diversos genes, incluindo bombas de efluxo, vias de biossíntese de antibióticos, em resposta a estresse osmótico e moléculas tóxicas, estando também envolvidos na diferenciação e patogenicidade em certas bactérias.

É interessante notar que os genes *trpE* e *trpG*, codificando subunidades da enzima antranilato sintase da via de biossíntese do triptofano, foram altamente induzidos (*trpG* grupo 1 NaCl e grupo 3 em sacarose; *trpE* grupo 4 em NaCl e grupo 1 em sacarose). Em *D. vulgaris*, genes relacionados à síntese de triptofano também foram induzidos por NaCl, porém, a adição do aminoácido ao meio de cultura não atuou como osmoprotetor

(Mukhopadhyay *et al.*, 2006). Em *Xylella*, há dois operons de biossíntese de triptofano e foi proposto recentemente que a região contendo os genes *trpG* e *trpE* foi adquirida por transferência lateral, visto que apresenta baixo conteúdo GC quando comparado com o restante do genoma (Xie *et al.*, 2003). Os genes desta região (XF1914-XF1919), organizados numa provável unidade transcricional foram altamente induzidos por NaCl e por Sacarose: os genes *trpG* (ou *trpAa*), *trpE* (ou *trpAb*), *acl*, genes codificando uma proteína hipotética, um regulador transcricional, e uma flavoproteína ferro-enxofre. Esta região compreende ainda o gene XF1920, que está localizado na orientação oposta aos genes XF1914-XF1919 e codifica o repressor da via de triptofano TrpR, induzido somente na presença de NaCl. O gene *acl* (XF1916), anotado originalmente como uma sintetase de coenzima F390, provavelmente codifica uma fenilacetato-CoA ligase que leva à ativação do antranilato e pode catalisar um passo da biossíntese de sideróforos ou antibióticos que são montados por um mecanismo de síntese não-ribossomal de peptídeos (NRPS) (Xie *et al.*, 2003). É interessante notar que o gene XF1021 (grupo 4 em NaCl, grupo 2 em sacarose) codificando uma acil tioesterase II potencialmente envolvida na NRPS também foi induzido.

Um grupo de genes possivelmente envolvidos na resposta a estresse oxidativo foi induzido por estresse salino e osmótico. Dentre eles, o gene codificando uma provável oxidoreductase (XF2390: grupo 1 em NaCl) homóloga à proteína de *Ralstonia solanacearum*; o gene de uma proteína hipotética reanotada neste trabalho como *ubiG* (XF1397: grupo 3 em NaCl, grupo 1 em sacarose), que catalisa o último passo da síntese de ubiquinona; e uma proteína periplasmática ligante de ferro (XF0324, grupo 3 em NaCl e grupo 4 em sacarose). A ubiquinona tem sido caracterizada com um papel fundamental na resposta ao estresse oxidativo, atuando como um antioxidante em altas concentrações e também na regulação gênica (Soballe & Poole, 1999). Em *Streptomyces coelicolor*, o estresse causado pela adição de KCl também levou à indução de genes relacionados à resposta ao estresse oxidativo (Lee *et al.*, 2005).

Quatro genes relacionados ao metabolismo de DNA também foram induzidos: *topA* (XFa0003: grupo 4 em NaCl e grupo 2 em sacarose) e *rin* (XFa0019: grupo 3 em NaCl e grupo 2 em sacarose) do plasmídeo pXF51, além de *ruvA* (XF1904: grupo 3 em NaCl e grupo 2 em sacarose) e *sphLM* (XF1804: grupo 3 em NaCl e grupo 1 em sacarose), codificando uma helicase envolvida em recombinação e uma metiltransferase, respectivamente. Em relação ao metabolismo de RNA, genes codificando uma tirosil-tRNA sintetase, uma ribonuclease P (XF0169 e XF2781 respectivamente: grupo 3 em NaCl e grupo 4 em sacarose), e a proteína NusA envolvida na terminação e antiterminação da transcrição (XF0234: grupo 4 em NaCl e grupo 2 em sacarose) foram induzidos.

Três genes relacionados a componentes celulares também se apresentaram induzidos: *lyc*, envolvido na hidrólise de ligações beta 1,4 no peptidoglicano entre acetil-D-glucosamina e ácido N-acetilmurâmico (XF2392: grupo 3 em NaCl, grupo 2 em sacarose), *yebN* que codifica uma provável proteína de membrana (XF2257: grupo 1 em NaCl) e o gene codificando uma proteína envolvida na biogênese da fímbria do tipo IV (XF0966: grupo 4 em NaCl e sacarose).

Genes com expressão diminuída na presença de NaCl e Sacarose

Apenas 38 genes apresentaram expressão diminuída nas duas condições de estresse testadas. Dentre eles, destacamos 5 genes codificando proteínas ribossômicas da subunidade 50S (*rplE*, *rpmB*, *rpmG*, *rpmA* e *rplU*) e diversos genes codificando Hsps: *clpB*, *groEL*, *groES*, *dnaK*, *dnaJ*, *grpE*, *hslU*, *hspA*, além da protease periplasmática *mucD* e da protease integral de membrana *hflK*. Em muitas bactérias, o estresse osmótico induz a expressão de Hsps, porém, nos dados obtidos, todos estes genes apresentaram-se reprimidos após os 30 minutos de estresse, mas não apresentaram mudanças nos níveis nos primeiros tempos de choque osmótico ou salino. Observou-se também a repressão de *exbB* e *exbD* (XF0010 e XF0012), envolvidos no transporte de biopolímeros, *phoX* (XF2141) que codifica uma

proteína ligante de fosfato de um transportador do tipo ABC, e *oprO* que codifica uma porina seletiva a pirofosfato e uma proteína integral de membrana (XF2252).

Genes diferencialmente expressos apenas na presença de NaCl

Além dos genes discutidos anteriormente, um conjunto de 192 genes apresentou expressão aumentada apenas após a adição de NaCl. Dentre eles, destacamos genes relacionados à resposta ao estresse oxidativo, todos com perfil de expressão semelhante que foram agrupados no grupo 4: *msrA* que codifica uma metionina-sulfóxido redutase (XF1940), enzima antioxidante que atua no reparo de resíduos de metionina oxidados (Ezraty *et al.*, 2005); *visC* e *visB* (XF0834 e XF0835), envolvidos na síntese de ubiquinona (Soballe & Poole, 1999); *trxA* que codifica uma tioredoxina (XF2698) com ação antioxidante, *aoa* que codifica uma L-ascorbato oxidase (XF2677), e ainda a indução de um gene codificando a Hsp33 (XF1713), que é uma chaperone regulada pelo estado redox da célula. Em *E. coli*, o estresse oxidativo severo causa a inativação da chaperone DnaK e ativa a Hsp33 (Winter *et al.*, 2005).

Observou-se também a indução de genes envolvidos no metabolismo de proteínas, principalmente relacionados aos aminoácidos prolina e metionina. Em relação a metionina, além de *msrA*, observou-se a indução de *map* (XF0111: grupo 3), que codifica uma metionina aminopeptidase responsável pela remoção de metionina da extremidade amino de proteínas recém-sintetizadas. Além disso, o gene *metK* (XF0392: grupo 3), envolvido na síntese de S-adenosil metionina e *metF* (XF1121: grupo 4), envolvido na síntese de metionina foram também induzidos. Em relação a prolina, o gene de uma prolina dipeptidase (XF0220: grupo 4) e *pepP* (XF2009: grupo 4) que codifica uma aminopeptidase a qual libera aminoácidos ligados a prolina foram induzidos. É interessante notar que alguns genes envolvidos na utilização de glutamato foram reprimidos durante o estresse por NaCl (XF1000, XF1002, XF1004, XF1956), o que pode indicar uma economia da utilização deste aminoácido para o

acúmulo de glutamato como um soluto compatível. Observou-se também a indução do gene *asd* (XF1371: grupo 4) que codifica uma aspartato semialdeído desidrogenase. Além de estar envolvida na via de biossíntese de lisina, um homólogo desta enzima em *Corynebacterium glutamicum* foi capaz de complementar o gene *proA* envolvido na biossíntese do aminoácido prolina em mutantes *proA*⁻ de *E. coli*, indicando seu papel na biossíntese de prolina (Serebrijski *et al.*, 1995).

Diversos genes relacionados a transporte também se mostraram induzidos: XF0874 (grupo 3) e XF0875 (grupo 4), que codificam uma permease e uma proteína ligante a ATP de um transportador do tipo ABC que têm com substrato aminoácidos polares como glutamato e aspartato que podem atuar como osmoprotetores; *ygjT* (XF0406: grupo 4) que codifica uma proteína envolvida na exportação, provavelmente no efluxo de íons; XF1749 (grupo 4) da superfamília de facilitadores de transporte além de XF0437 (grupo 3), re-anotada como o canal mecanossensível MscS. Esta última proteína está envolvida na resposta ao estresse hipoosmótico, permitindo a extrusão de água. Estudos recentes demonstraram que a síntese do seu mRNA é induzida em condições de estresse hiperosmótico, como preparação da célula para voltar aos níveis normais ou hipoosmóticos de osmolaridade e balancear rapidamente os níveis de solutos celulares com a osmolaridade do meio (Stokes *et al.*, 2003).

Seis genes relacionados à fímbria foram também induzidos, todos com perfis de expressão semelhantes foram classificados no grupo 3: duas fimbrilinas (XF0538 e XF1791), a proteína *fimV* (XF1372), uma pilina (XF1792), uma peptidase de pré-pilina líder (XF2537) e uma proteína de fímbria (XF2539). Por outro lado, outros 7 genes relacionados foram reprimidos (grupo 5), principalmente após os 30 minutos de estresse: XF0083, codificando o precursor da subunidade da fímbria; XF0369 a XF0371, codificando proteínas de membrana envolvidas na montagem da fímbria; XF0372 e XF0373 envolvidas na montagem do pili e ainda XF2544 codificando uma proteína da biogênese da fímbria. Ainda relacionado à adesão,

o gene *uspA1* (XF1516: grupo 4) também foi induzido assim como *gumJ* (XF2362: grupo 3), envolvido na biossíntese de goma.

Em relação ao metabolismo de DNA, além do conjunto de genes induzidos em comum nos estresses por NaCl e sacarose, outros 4 genes apresentaram indução: no grupo 3 encontram-se *dnaA* (XF0001), *rin* (XF2028) que codifica uma recombinase, uma DNA metilase (XF2297) e no grupo 4, uma metilase do sistema de restrição do tipo I (XF2728).

Genes relacionados à membrana externa e peptidoglicano também apresentaram indução: *glmU* (XF1140) envolvido na biossíntese de peptidoglicano e *ompP* que codifica uma porina de membrana externa envolvida no transporte de ácidos graxos de cadeia longa (XF1053) no grupo 3; *bacA* (XF1840) que contribui para a montagem do LPS, *pbp4* (XF1614) que codifica uma proteína ligante a penicilina e *lpxD* (XF1419) envolvida na biossíntese de lipídeo A, todas no grupo 4. Um conjunto de genes envolvido na biossíntese de fosfolipídeos também apresentou indução: *gpsA* (grupo3) que catalisa o primeiro passo da biossíntese de fosfolipídeos, *plsC* (grupo3) que atua na produção de ácido fosfatídico, *pgsA* (grupo 4) envolvido na síntese de fosfatidilglicerol e *psd* (grupo4) que atua na síntese de fosfatidiletanolamina.

Além dos 5 genes relacionados com funções regulatórias que foram induzidos na presença de NaCl e sacarose, 9 outros genes foram induzidos somente em NaCl. No grupo 3, agruparam-se *colS* (XF2535), que codifica uma proteína sensora de sistema de dois componentes, que também apresentou indução no choque térmico e dois reguladores de transcrição do mega-plasmídeo pXF51 (XFa0001 e XFa0057). No grupo 4, encontram-se dois genes codificando reguladores transcricionais da família LysR (XF0833 e XF1752), uma proteína regulatória de sistema de dois componentes (XF0401), um provável regulador transcricional (XF1596) e o repressor do operon do triptofano (XF1920), já mencionado acima. É interessante notar que um regulador transcricional da família LysR em *Pseudomonas putida* foi caracterizado como induzido em condições de estresse osmótico e estresse

oxidativo (Lee *et al.*, 2006). Além disso, 16 genes relacionados a fagos, 70 genes codificando proteínas hipotéticas conservadas e 32 genes codificando proteínas hipotéticas apresentaram indução por NaCl.

Dentre os genes com expressão diminuída somente em NaCl, destacamos outros genes que codificam proteínas ribossômicas (*rplB*, *rplV*, *rpsC*, *rpmE*, *rpsT*, *rpsR*, *rpsF*), genes relacionados à divisão celular (*ftsA* e *minD*), genes relacionados ao transporte de fosfato *pstA*, *pstB* e um gene codificando uma permease de ATP, além de *phoX* que foi reprimido nas duas condições de estresse. Em adição, o gene XF0749 codificando uma proteína associada à virulência XrvA foi reprimido, em contraste com XF1493, que também codifica uma proteína homóloga com 55% de identidade, que apresentou indução por sal e sacarose. Estas proteínas são da família H-NS que se ligam a DNA.

Genes com expressão alterada somente na presença de sacarose

A maioria dos genes que apresentou expressão aumentada exclusivamente em sacarose codifica proteínas hipotéticas e hipotéticas conservadas (5 hipotéticas e 20 hipotéticas conservadas). Além disso, 7 genes relacionados a elementos genéticos móveis apresentaram indução: 4 relacionados a fagos, 2 relacionados à conjugação do mega-plasmídeo pXF51 *trbE* e *trbH* (XFa0041 e XFa0044: grupo 2) e uma transposase (XF1931: grupo 2).

Dentre os genes relacionados à virulência, destacam-se aqueles codificando a colicina V (XF0263: grupo 2), uma bacteriocina (XF2407: grupo 2) e a hemaglutinina *pspA* (XF2775: grupo 4). O gene *ahpF* (XF1531: grupo 2), que é uma subunidade da alquil hidroperóxido redutase envolvida na resposta ao estresse oxidativo também apresentou indução. Esta enzima é considerada uma das mais importantes na defesa contra o estresse causado por hidroperóxidos orgânicos (Poole, 2005). Além disso, observou-se a indução de *fabD* (XF0670: grupo 4), envolvido na síntese de ácidos graxos; *ribA* (XF0953: grupo 3), envolvido na síntese de riboflavina e possivelmente relacionado com a redução e tomada de ferro do

meio (Worst *et al.*, 1998), o gene *oafA* de uma acetilase de antígeno O (XF0778: grupo 1), o gene codificando um precursor da beta manosidase (XF0846: grupo 2) envolvido na degradação de glicano e o gene codificando uma corismato mutase (XF1141: grupo 2). O corismato pode ser utilizado para a síntese de antranilato, ubiquinona ou folato. É interessante notar que os genes *trpE* e *trpG* codificando a antranilato sintase e genes de biossíntese de ubiquinona também apresentaram indução na presença de sacarose. Dois genes originalmente anotados como proteínas hipotéticas conservadas e reanotados como reguladores da transcrição também apresentaram expressão aumentada.

IV. DISCUSSÃO FINAL

1. Métodos para análise de dados de microarranjos de DNA

O desenvolvimento de ferramentas para a análise de dados de microarranjos de DNA permitiu que os dados experimentais obtidos em relação à resposta a estresses ambientais em *X. fastidiosa* fossem analisados de forma crítica e também contribuíram com alguns métodos originais na área de bioinformática.

A metodologia *HTself* para determinar genes diferencialmente expressos (Vencio & Koide, 2005) tem sido utilizada com sucesso, conforme se verificou nos experimentos de validação por RT-PCR quantitativo, que confirmaram os resultados de microarranjos. Mais ainda, diversos projetos desenvolvidos no Instituto de Química da USP e outras instituições como o Hospital do Câncer A.C. Camargo e o Hospital Israelita Albert Einstein, adotaram também o sistema *HTself* como ferramenta de trabalho para análises de dados de microarranjos. A utilização de um valor de corte arbitrário para considerar os genes como diferencialmente expressos, em geral duas vezes mais expressos, tem sido amplamente utilizada na literatura pois os primeiros artigos de microarranjos de DNA utilizaram este corte. Entretanto, não há evidências de que este seja um valor universal adequado para qualquer experimento (Hoheisel, 2006). A flexibilidade na utilização de poucas réplicas experimentais e o uso de experimentos homotípicos permite a determinação de valores de corte mais realistas para classificar um gene como diferencialmente expresso.

Uma vez que os genes diferencialmente expressos tenham sido selecionados, a utilização da ferramenta *BayGO* para encontrar categorias funcionais altamente representadas pode auxiliar na interpretação e na construção de hipóteses a partir dos dados experimentais. Na área de bioinformática, a novidade consiste no uso de uma metodologia bayesiana de análise dos dados, utilizando medidas de associação e de estimativa de barras de erros (Vencio *et al.*, 2006).

Uma das dificuldades comumente encontradas para realizar a análise de dados de microarranjos de DNA é a utilização de ferramentas computacionais que envolvem linguagens de programação, com as quais nem todos os pesquisadores estão habituados. A organização das ferramentas necessárias nas diversas etapas de análise dos dados no sistema *SpotWhatR* permite que os programas computacionais desenvolvidos sejam amplamente utilizados (Koide *et al.*, 2006a).

Para que outros pesquisadores pudessem ter acesso às metodologias desenvolvidas, todas as ferramentas citadas possuem uma interface amigável, seja como uma ferramenta *on-line* ou como um programa com interface de janelas, e estão disponíveis livremente e gratuitamente na *Internet*.

2. Resposta a estresses ambientais

A resposta a estresses ambientais tem sido caracterizada em diversas bactérias e com o advento de tecnologias para estudos em larga escala, é possível obter uma visão geral dos mecanismos envolvidos na resposta a estresses. Em bactérias fitopatogênicas, pouco tem sido caracterizado em relação à resposta a estresses ambientais, de forma que o estudo da resposta aos estresses térmico, osmótico e salino em *X. fastidiosa* visa contribuir para a maior compreensão da fisiologia deste fitopatógeno.

A comparação da resposta aos estresses térmico, salino e osmótico revelou apenas 30 genes induzidos em comum nas três condições testadas (Figura 26). Dentre eles, 16 estão localizados no mega-plasmídeo pXF51, incluindo genes que codificam proteínas relacionadas à conjugação e mobilização do plasmídeo (MobC e TrbB), a nickase TaxC, a proteína associada à virulência VapD, um regulador de transcrição, a topoisomerase TopA, uma proteína relacionada à estabilidade do plasmídeo e 10 genes que codificam proteínas hipotéticas ou hipotéticas conservadas. A indução destes genes pode indicar que em condições de estresse, o plasmídeo pXF51 é mobilizado. Dos 14 genes localizados no cromossomo

principal, a região que compreende os genes XF2062 a XF2068 contém proteínas relacionadas à estabilidade do plasmídeo YacB, um repressor transcricional KorC envolvido com sistemas de incompatibilidade de plasmídeos e 4 proteínas hipotéticas ou hipotéticas conservadas; já os genes XF2514 e XF2515 que codificam proteínas hipotéticas conservadas estão localizados no fago XfP2. Assim, a maioria dos genes induzidos em comum nos três estresses está relacionada a elementos genéticos móveis, indicando uma mobilização destes elementos em condições ambientais adversas.

Destacam-se ainda os genes *phoQ*, *tesB* e *yebN*. PhoQ é uma proteína sensora de um sistema de dois componentes que ativa o regulador de resposta PhoP, na presença de cátions divalentes como magnésio e cálcio. Mutantes em *phoQ* apresentaram virulência reduzida em *Salmonella*, *Y.pestis* e *Erwinia carotovora* (Groisman, 2001), enquanto em *P. aeruginosa* este gene apresentou alta indução no estresse osmótico (Aspedon *et al.*, 2006). TesB é uma acil-coA tioesterase II, que pode estar envolvida tanto na biossíntese de ácidos graxos como também na biossíntese não-ribossômica de peptídeos. Por sua vez, YebN é uma provável proteína de membrana, de função desconhecida.

Com relação aos genes induzidos somente no estresse térmico e salino, destacam-se 4 genes relacionados a fagos, 14 proteínas hipotéticas ou hipotéticas conservadas, uma peptidase, as proteínas BacA e GlnU envolvidas na biossíntese de LPS e peptidoglicano, XpsF e XpsO, relacionados ao sistema de secreção do tipo II, e a proteína UspA1, envolvida em adesão. Estas últimas proteínas estão relacionadas a estruturas da superfície celular que podem ser afetadas durante o estresse.

Somente 8 genes foram induzidos tanto no choque térmico como osmótico: o gene *ahpF* envolvido na resposta a peróxidos, dois genes que codificam um regulador transcricional putativo e outro regulador da família TetR, dois genes que codificam uma bacteriocina e uma hemaglutinina, e três genes que codificam proteínas hipotéticas ou hipotéticas conservadas. A família TetR de reguladores transcricionais é bastante ampla e está

envolvida no controle de diversos processos celulares envolvidos na adaptação a modificações ambientais, atuando geralmente como um repressor (Ramos *et al.*, 2005).

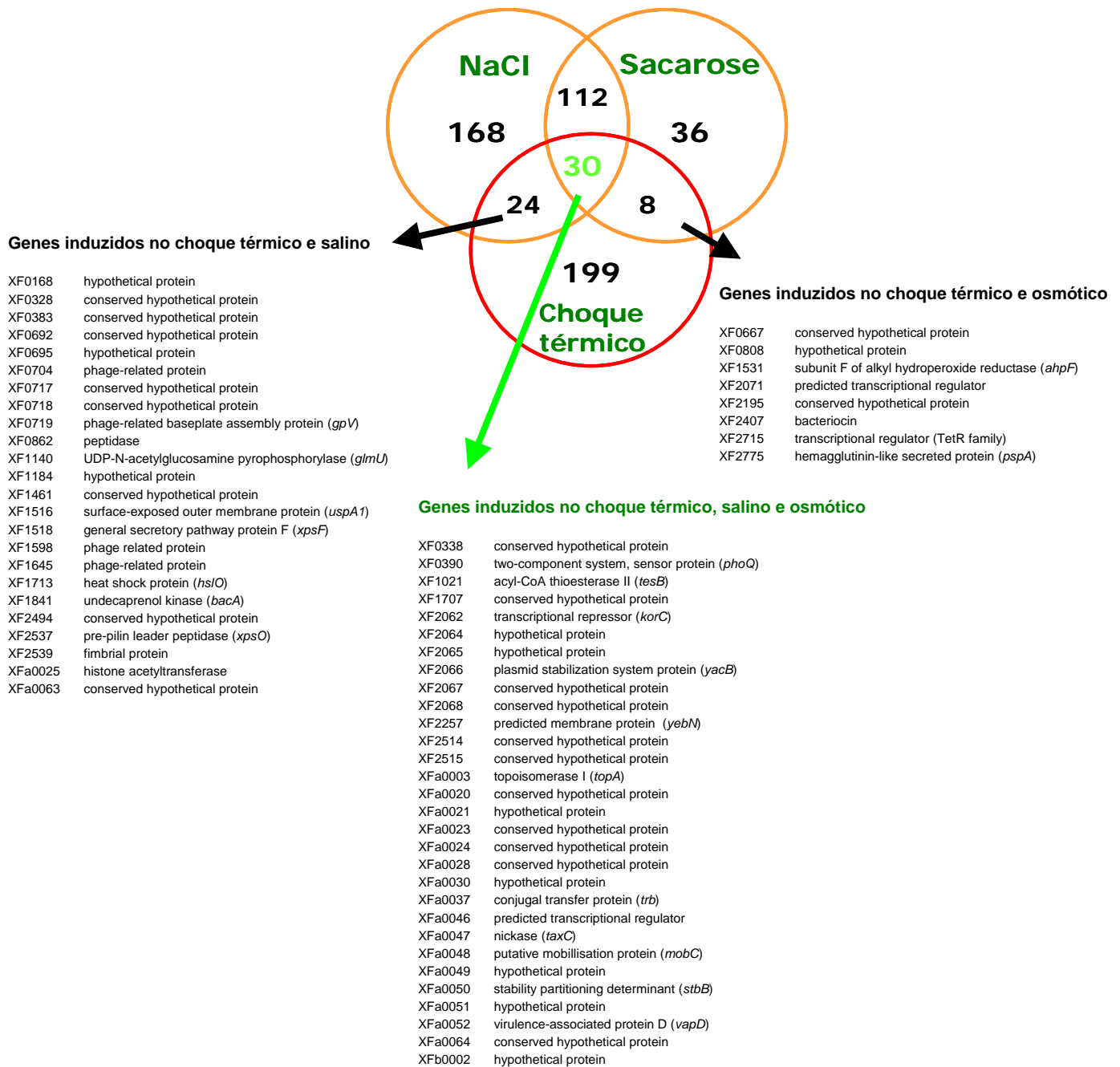


Figura 26: Genes com expressão aumentada em mais de um dos estresses testados em *X. fastidiosa*.

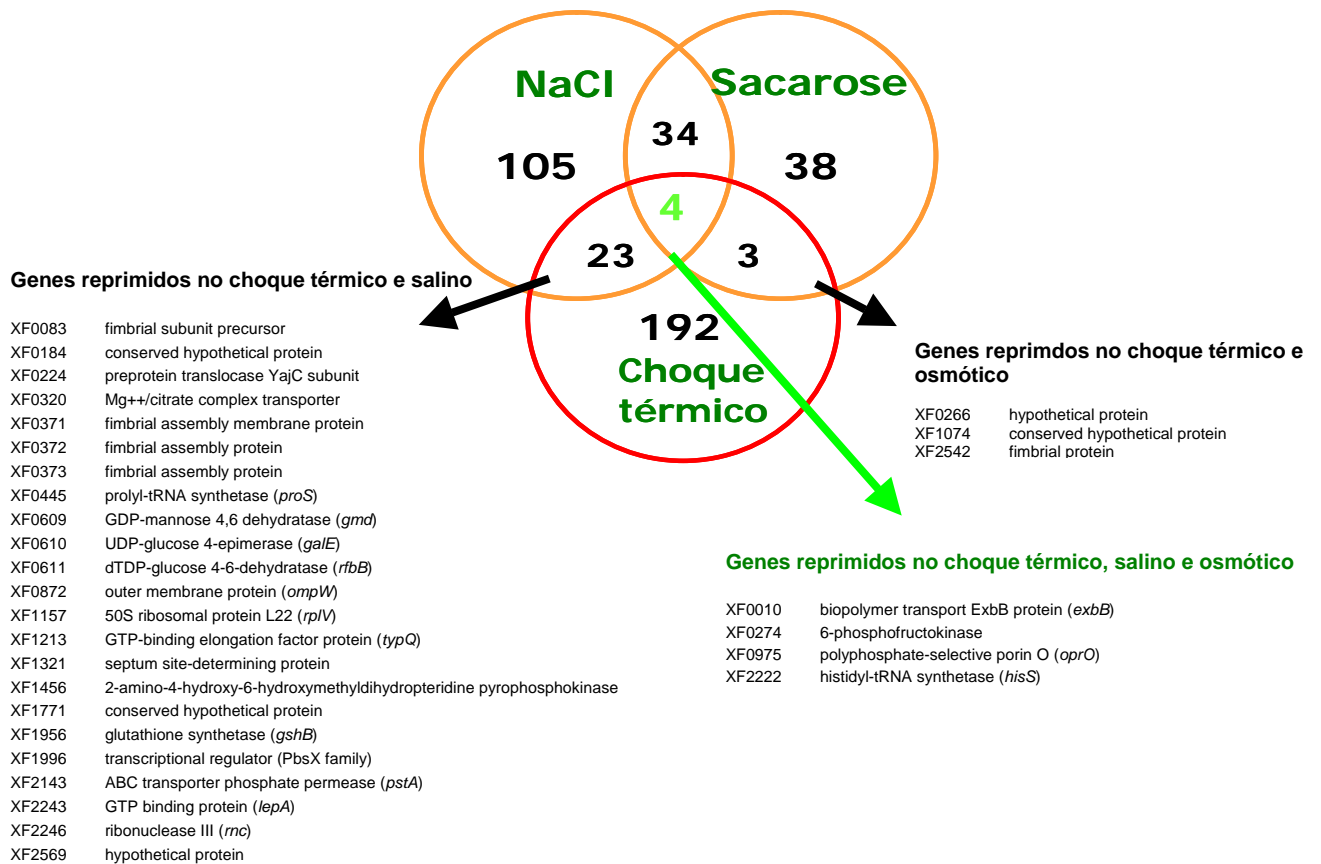


Figura 27: Genes com expressão diminuída em mais de um dos estresses testados em *X. fastidiosa*.

Dentre os genes que apresentaram expressão diminuída, somente 4 são comuns aos três estresses testados, 3 somente nos estresses térmico e osmótico, e 23 somente no estresse térmico e salino (Figura 27), com destaque para um conjunto de 3 genes relacionados à fímbria do tipo IV.

Vale ressaltar que 199 genes foram induzidos exclusivamente no choque térmico, com destaque para os genes que codificam Hsps. Em *X. fastidiosa*, somente o choque térmico provocou a indução do regulon de σ^{32} , com exceção do gene *hslO* da família Hsp33, que foi também induzido no estresse salino. Os genes *grpE*, *dnaK*, *dnaJ*, *groES*, *groEL*, *clpB* e *hspA* foram altamente induzidos no choque térmico, com uma cinética característica de indução transiente, com pico de expressão aos 25 minutos de exposição à alta temperatura. Além disso, experimentos para determinar o início de transcrição permitiram propor um provável consenso para promotores dependentes de σ^{32} em *X. fastidiosa*: CTTGAAA{9-

14}CCNCACAT (Koide *et al.*, 2006b). Por sua vez, durante o estresse salino e osmótico em *X. fastidiosa*, os genes codificando Hsps apresentaram níveis de expressão menores do que o controle após a exposição ao estresse por 30 e 60 minutos, diferentemente do que ocorre em outras bactérias, onde a expressão é induzida. Por exemplo, em *E. coli* observou-se a indução do regulon de σ^{32} (Bianchi & Baneyx, 1999), e em *Lactococcus*, a indução de *dnaK* (Xie *et al.*, 2004) na presença de estresse osmótico.

Alguns genes do regulon de σ^E em outras bactérias também apresentaram alta indução no choque térmico, com destaque para *mucD*, que codifica uma protease periplasmática e *rseA*, um regulador negativo da atividade de σ^E . O regulon de σ^E de *X. fastidiosa* foi determinado recentemente, compreendendo 22 genes que codificam proteínas envolvidas na degradação e dobramento de proteínas, em transmissão de sinal, proteínas relacionados à modificação e restrição do DNA, além de proteínas hipotéticas (da Silva Neto *et al.*, submetido). Desses 22 genes, 10 apresentaram indução no choque térmico. Este fator sigma alternativo, envolvido na resposta a estresse extracitoplasmático foi caracterizado em diversas bactérias com um papel também na resposta ao estresse osmótico. Entretanto, em *X. fastidiosa*, experimentos preliminares comparando a cepa selvagem com o mutante no fator σ^E , durante os estresses salino e osmótico, não revelaram genes regulados por este fator sigma (dados não mostrados). No mutante nulo em σ^E , seis genes apresentaram níveis de mRNA um pouco reduzidos na presença de NaCl e dez genes na presença de sacarose. Entretanto, nenhum deles foi induzido nos estresses salino ou osmótico (dados não mostrados). Vale notar que não foram encontrados genes relacionados à síntese de LPS no regulon σ^E de *X. fastidiosa* (da Silva Neto *et al.*, submetido), apesar de alguns deles terem sido diferencialmente expressos no choque térmico.

Desta forma, a resposta ao choque térmico em *X. fastidiosa* é regulada tanto pelo fator σ^{32} como pelo fator σ^E , enquanto a resposta aos estresses salino e osmótico não parece ser regulada por esses fatores sigma alternativos. É importante ressaltar que ao contrário do σ^E ,

para o qual foi possível obter um mutante nulo, não foi possível obter um mutante nulo em *rpoH*, gene que codifica o fator σ^{32} , indicando que sua função é provavelmente essencial para a célula, mesmo em temperaturas normais (J.F. da Silva Neto e M.V. Marques, comunicação pessoal).

Além do fator σ^{32} e do fator σ^E , somente dois outros fatores sigma foram identificados no genoma de *X. fastidiosa*: o sigma principal σ^{70} e um membro da família do fator σ^{54} . Em várias bactérias, o fator σ^{54} está relacionado com a resposta à carência de nitrogênio e está envolvido com a regulação de genes relacionados à fímbria (Mattick, 2000). Assim, os genes que respondem aos estresses salino e osmótico devem ser provavelmente transcritos pelo sigma principal σ^{70} em *Xylella*, em conjunto com outros reguladores transcricionais. É interessante notar que três genes codificando reguladores transcricionais foram induzidos tanto na presença de NaCl como de sacarose, oito somente com NaCl e dois somente com sacarose (Figura 28).

A busca por promotores dependentes de σ^{70} na região compreendendo até 200 pb a partir do início de tradução dos 142 genes induzidos tanto por NaCl e como por sacarose resultou em 125 promotores putativos (Tabela S12), dando suporte à hipótese de transcrição mediada por σ^{70} , cuja ativação ou repressão deve depender de outros reguladores de transcrição. É importante ressaltar que esta busca deve ser interpretada cautelosamente, dado que foram utilizadas matrizes de probabilidade derivadas de promotores σ^{70} de *E. coli* (Harley & Reynolds, 1987). Além disso, o início de transcrição destes genes não foi mapeado e nem sempre o promotor putativo com maior pontuação corresponde ao promotor verdadeiro (Huerta & Collado-Vides, 2003). Huerta e colaboradores mostraram que em *E. coli*, o verdadeiro promotor dependente de σ^{70} está localizado em uma região contendo diversas seqüências com similaridade a promotores, o que dificulta o reconhecimento do promotor verdadeiro sem o conhecimento do início de transcrição do gene (Huerta & Collado-Vides, 2003).

Dentre os genes induzidos somente na presença de NaCl e sacarose, destaca-se com níveis bastante elevados de indução o gene anotado como *tctE* (XF0323), que codifica um provável sensor de um sistema de dois componentes. Este gene está organizado num provável operon com o gene *tctD* (XF0322) a montante, gene este que codifica um regulador de resposta da família OmpR, mas não mostrou alteração nos níveis de seu transcrito durante o estresse. A jusante de *tctE*, encontra-se o gene *afuA* (XF0324), que codifica uma proteína periplasmática ligante de ferro, o qual também foi induzido na presença de NaCl e sacarose. A alta indução somente em condições de estresse salino e osmótico do gene XF0323, mas não durante o choque térmico, pode indicar que este gene esteja relacionado com a regulação da resposta a estresse osmótico. O sensor poderia atuar de forma semelhante a EnvZ, sensor relacionado à resposta a estresse osmótico ou a CpxA, proteína sensora relacionada com estresses no envelope celular, cuja autofosforilação em resíduos de histidina levaria à ativação do regulador de resposta para a transcrição de genes que atuam em resposta ao estresse hiperosmótico. A proteína codificada por XF0323 apresenta 26% de identidade e 45% de similaridade com CpxA e 25% de indentidade e 44% de similaridade com EnvZ, ambas de *E. coli*.

Muitos dos genes classicamente caracterizados com papel na resposta ao estresse osmótico e salino não foram anotados no genoma de *X. fastidiosa*. Desta forma, o estudo da resposta ao estresse salino e osmótico aqui apresentado permitiu delinear alguns mecanismos de resposta a estes estresses em nível transcricional em *Xylella*. As categorias funcionais que mais se destacaram, tanto em número de genes (Figura 28) como em valores de indução, foram as dos genes codificando proteínas hipotéticas e hipotéticas conservadas, indicando um possível papel dessas proteínas na resposta a esses estresses. Os estudos pós-genômicos têm ainda muito a desvendar a respeito da função desta grande quantidade de genes, destacando a importância dos estudos em larga escala para auxiliar a delinear funções para os genes codificando proteínas hipotéticas.

Genes induzidos no choque salino

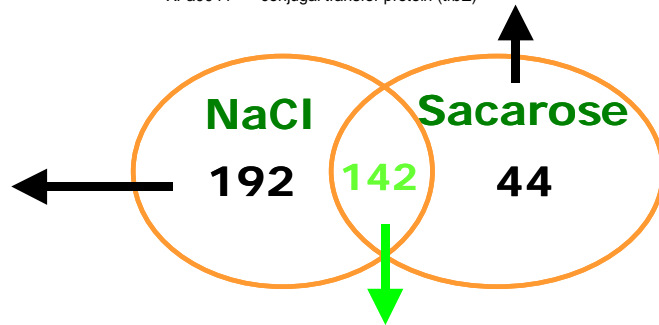
70 proteínas hipotéticas conservadas + 32 proteínas hipotéticas
 Fagos: 20 genes relacionados a elementos genéticos móveis

XF0001 chromosomal replication initiator (*dnaA*)
 XF0063 competence protein F (*comF*)
 XF0111 methionine aminopeptidase (*map*)
 XF0193 6-pyruvoyl tetrahydrobiopterin synthase (*ygclM*)
 XF0197 acyltransferase
 XF0220 proline dipeptidase
 XF0264 colicin V precursor
 XF0392 methionine adenosyltransferase (*metK*)
 XF0401 two-component system, regulatory protein
 XF0406 export protein (*ygjT*)
 XF0437 Mechanosensitive ion channel (*mscS*)
 XF0538 fimbrillin
 XF0552 tetrapyrrole methylase family protein
 XF0742 phenylalanyl-tRNA synthetase beta chain (*pheT*)
 XF0832 siroheme synthase (*cysG*)
 XF0833 transcriptional regulator (LysR family) (*cysB*)
 XF0834 Ubiquinone biosynthesis hydroxylase (*visC*)
 XF0835 2-octaprenyl-6-methoxyphenol hydroxylase (*visB*)
 XF0839 pyridoxal phosphate biosynthetic protein (*pdxA*)
XF0862 peptidase
 XF0874 ABC transporter permease protein
 XF0875 ABC transporter ATP-binding protein
 XF0887 mannosyltransferase (*mtfA*)
 XF1053 outer membrane protein (*ompP1*)
 XF1054 rhomboid-like protein
 XF1121 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (*metF*)
XF1140 UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase (*glmU*)
 XF1146 ATP synthase, delta chain (*atpH*)
 XF1149 ATP synthase, A chain (*atpB*)
 XF1365 phosphatidylserine decarboxylase (*psd*)
 XF1371 aspartate-B-semialdehyde dehydrogenase (*asd*)
 XF1372 fimV protein
 XF1419 acetyltransferase (*lpxD*)
XF1516 surface-exposed outer membrane protein (*uspA1*)
XF1518 general secretory pathway protein F (*xpsF*)
 XF1596 predicted transcriptional regulator
 XF1614 penicillin binding protein (*pbp4*)
 XF1711 Endoribonuclease L-PSP
XF1713 heat shock protein HSP33 (*hsI0*)
 XF1749 major facilitator superfamily
 XF1752 transcriptional regulator (LysR family)
 XF1791 fimbrillin
 XF1792 Fimbrial protein pilin
 XF1797 porphyrin biosynthesis protein (*hemY*)
 XF1802 glycerol-3-phosphate dehydrogenase (*gpsA*)
 XF1828 ATPase
XF1841 undecaprenol kinase (*bacA*)
 XF1894 radical activating enzyme
 XF1920 Trp operon transcriptional repressor (*trpR*)
 XF1940 peptide methionine sulfoxide reductase (*msrA*)
 XF1950 CheW like protein
 XF1972 tRNA/rRNA methylase (*yibK*)
 XF2009 aminopeptidase P (*pepP*)
 XF2028 site-specific recombinase (*rin*)
 XF2297 DNA methylase
 XF2310 CDP-diacylglycerol-glycerol-3-phosphate 3-phosphatidyltransferase (*pgsA*)
 XF2362 GumJ protein (*gumJ*)
 XF2491 transcriptional regulator
 XF2532 ribosomal protein S6 modification protein (*rimK*)
 XF2535 two-component system, sensor protein (*colS*)
XF2537 pre-pilin leader peptidase (*xpsO*)
XF2539 fimbrial protein
 XF2563 asparaginyl-tRNA synthetase (*asnS*)
 XF2677 L-ascorbate oxidase (*aaO*)
 XF2698 thioredoxin (*trxA*)
 XF2728 type I restriction-modification system DNA methylase
 XFa0001 transcriptional regulator
XFa0025 histone acetyltransferase
 XFa0057 transcriptional regulator (*korA*)

Genes induzidos no choque osmótico

20 proteínas hipotéticas conservadas e 5 proteínas hipotéticas

XF0263 colicin V precursor
 XF0654 putative NPL/P60
 XF0670 malonyl CoA-ACP transacylase (*fabD*)
 XF0680 phage-related protein
 XF0778 O-antigen acetylase (*oafA*)
 XF0846 beta-mannosidase precursor
 XF0953 GTP cyclohydrolase II/3,4-dihydroxy-2-butanone 4-phosphate synthase (*ribA*)
 XF1141 chorismate mutase
XF1531 subunit F of alkyl hydroperoxide reductase (*ahpF*)
 XF1718 phage-related integrase (*int*)
 XF1931 transposase (*trpA*)
XF2071 predicted transcriptional regulator
XF2407 bacteriocin
 XF2501 phage-related protein
XF2715 transcriptional regulator (TetR family)
 XF2765 phage related protein
XF2775 hemagglutinin-like secreted protein (*pspA*)
 XFa0041 conjugal transfer protein (*trbH*)
 XFa0044 conjugal transfer protein (*trbE*)



Genes induzidos no choque salino e osmótico

55 proteínas hipotéticas conservadas + 26 proteínas hipotéticas = 57% dos genes induzidos
 Fagos: 1 gene do fago XfP1, 5 genes do XfP3, 6 genes do XfP4 e 4 genes do XfP2
 Funções plasmidiais: 7 localizados no cromossomo e 10 no mega-plasmídeo pXF51.

XF0169 tyrosyl-tRNA synthetase (*tyrS*)
 XF0234 N utilization substance protein A
 XF0300 acriflavin resistance protein
 XF0323 two-component system, sensor protein
 XF0324 periplasmic iron-binding protein
XF0390 two-component system, sensor protein
 XF0765 YeeE/YedE integral membrane protein
 XF0766 YeeE/YedE integral membrane protein
 XF0768 beta-lactamase-like
 XF0811 predicted methyltransferase
 XF0966 type 4 fimbrial biogenesis protein
XF1021 acyl-CoA thioesterase II (*tesB*)
 XF1220 colicin V secretion ABC transporter ATP-binding protein (*cvaB*)
 XF1361 Beta-lactamase-like
 XF1397 2-polypropenyl-3-methyl-5-hydroxy-6-methoxy-1,4-benzoquinol methylase (*ubiG*)
 XF1493 virulence regulator (*xrvA*)
 XF1804 site-specific DNA-methyltransferase (*sphIM*)
 XF1904 holliday junction binding protein, DNA helicase (*ruvA*)
 XF1914 anthranilate synthase component I (*trpE*)
 XF1915 anthranilate synthase component II (*trpG*)
 XF1916 coenzyme F390 synthetase (*af1671*)
 XF1919 iron-sulfur flavoprotein
 XF2062 transcriptional repressor (*korC*)
 XF2085 transcriptional regulator
 XF2122 Zn-finger, CHC2 type
XF2257 predicted membrane protein (*yebM*)
 XF2390 putative oxidoreductase protein
 XF2392 autolytic lysozyme (*lyc*)
 XF2439 cytidylate kinase (*cmkA*)
 XF2781 ribonuclease P (*mpA*)
XFa0003 topoisomerase I (*topA*)
 XFa0019 site-specific recombinase (*rin*)
XFa0046 predicted transcriptional regulator
XFa0052 virulence-associated protein D (*vapD*)

Figura 28: Genes induzidos nos estresses salino e osmótico em *X. fastidiosa*. Os genes indicados em negrito também foram induzidos no choque térmico.

Genes reprimidos no choque salino

21 proteínas hipotéticas conservadas + 11 proteínas hipotéticas

XF0060 pyridoxal phosphate biosynthetic protein (*pdxJ*)

XF0083 fimbrial subunit precursor (F17A-A)

XF0185 band 7 protein/ SPFH domain

XF0204 DNA polymerase III, alpha chain (*dnaE*)

XF0205 phosphoribosylaminoimidazole-succinocarboxamide synthase (*purC*)

XF0224 preprotein translocase YajC subunit

XF0287 regulator of pathogenicity factors

XF0320 Mg⁺⁺/citrate complex transporter

XF0340 disulfide bond formation protein B

XF0369 fimbrial assembly membrane protein

XF0370 fimbrial assembly membrane protein

XF0371 fimbrial assembly membrane protein

XF0372 fimbrial assembly protein

XF0373 fimbrial assembly protein

XF0445 prolyl-tRNA synthetase (proS)

XF0446 DNA-binding protein (*bbh3*)

XF0572 beta-hydroxydecanoyl-ACP dehydratase (*fabA*)

XF0609 GDP-mannose 4,6 dehydratase (gmd)

XF0610 UDP-glucose 4-epimerase (galE)

XF0611 dTDP-glucose 4-6-dehydratase (rfbB)

XF0657 alkaline phosphatase (*phoA*)

XF0749 virulence regulator (*xrvA*)

XF0751 ribonuclease D (*rnd*)

XF0801 cell division protein (*ftsA*)

XF0816 zinc protease

XF0831 cysteine synthase (*cysK*)

XF0846 beta-mannosidase precursor

XF0847 beta-hexosaminidase precursor (*nahA*)

XF0872 outer membrane protein (ompW)

XF0961 bacterioferritin comigratory protein (*bcp*)

XF0980 lipopolysaccharide synthesis enzyme (*kdtB*)

XF0998 ornithine carbamoyltransferase (*argF*)

XF0999 argininosuccinate synthase (*argG*)

XF1001 acetylglutamate kinase (*argE*)

XF1002 N-acetyl-gamma-glutamyl-phosphate reductase (*af2071*)

XF1004 glutamate 5-kinase (*dr1827*)

XF1067 sugar ABC transporter ATP-binding protein (*dr2153*)

XF1124 Maf-like protein

XF1155 50S ribosomal protein L2 (*rlpB*)

XF1157 50S ribosomal protein L22 (rlpIV)

XF1158 30S ribosomal protein S3 (*rpsC*)

XF1213 GTP-binding elongation factor protein (typQ)

XF1222 ABC transporter permease protein

XF1265 Autotransporter beta-domain

XF1297 gluconolactonase precursor (*scf11.04*)

XF1321 septum site-determining protein (mind)

XF1382 Ferritin and Dps

XF1423 phosphoribosylformylglycinamide synthetase (*purL*)

XF1456 2-amino-4-hydroxy-6-hydroxymethylidihydropteridine pyrophosphokinase (folK)

XF1467 acetyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase subunit beta (*accD*)

XF1470 UDP-N-acetylglucosamine-N-acetylmuramyl- (pentapeptide) pyrophosphoryl-undecaprenol

XF1472 benzene 1,2-dioxygenase, ferredoxin protein (*bedB*)

XF1474 ABC transporter membrane protein (*ynhC*)

XF1475 ABC transporter ATP-binding protein (*ynhD*)

XF1476 ABC transporter membrane protein (*rl4004*)

XF1477 putative transcriptional regulator, Rrf2 family

XF1484 heat shock protein (*hslV*)

XF1497 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate reductase (*cysH*)

XF1500 ATP sulfurylase, small subunit (*cysD*)

XF1534 50S ribosomal protein L31 (*rplmE*)

XF1535 citrate synthase (*gltA*)

XF1539 S-adenosyl methionine decarboxylase proenzyme (*speD*)

XF1552 transcription factor jumoni, *jmjC*

XF1610 fructokinase

XF1800 putative rhodanese-like protein

XF1811 outer membrane protein Slp precursor

XF1855 fumarate hydratase (*fumB*)

XF1909 A/G-specific adenine glycosylase (*mutY*)

XF1956 glutathione synthetase (gshB)

XF1996 transcriptional regulator (PbsX family)

XF2025 DNA primase (*traC*)

XF2082 oxidoreductase (*spaC*)

XF2094 multidrug-efflux transporter

XF2143 ABC transporter phosphate permease (pstA)

XF2144 phosphate ABC transporter ATP-binding protein (*pstB*)

XF2165 transcription-related protein

XF2174 thioredoxin (*ybbN*)

XF2176 leucyl-tRNA synthetase (*leuS*)

XF2214 cyclase (*hisF*)

XF2243 GTP binding protein (lepA)

XF2244 signal peptidase I (*lepB*)

XF2246 ribonuclease III (rnc)

XF2255 acetyl coenzyme A synthetase (*acs*)

XF2266 glycerol-3-phosphate dehydrogenase (*glpD*)

XF2305 Glyoxalase/bleomycin resistance protein/dioxygenase

XF2345 outer membrane protein (*ompA*)

XF2421 30S ribosomal protein S20 (*rpsT*)

XF2544 pilus biogenesis protein (*pilB*)

XF2560 30S ribosomal protein S18 (*rpsR*)

XF2561 30S ribosomal protein S6 (*rpsF*)

XF2585 protein-L-isoaspartate O-methyltransferase

XF2586 outer membrane export factor (*tolC*)

XF2638 transcription antitermination factor (*nusG*)

XF2656 N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase, family 2

XF2778 thiophene and furan oxidation protein (*thdF*)

Genes reprimidos no choque osmótico

11 proteínas hipotéticas conservadas + 4 proteínas hipotéticas

XF0011 biopolymer transport ExbD1 protein (*exbD1*)

XF0017 coproporphyrinogen III oxidase, aerobic(*hemF*)

XF0061 transcriptional repressor (*korB*)

XF0107 30S ribosomal protein S16 (*rpsP*)

XF0276 UDP-N-acetylmuramate-L-alanine ligase

XF0309 NADH-ubiquinone oxidoreductase, NQO2 subunit

XF0356 cytochrome P-450 hydroxylase

XF0527 phage related protein

XF0826 fructose-bisphosphate aldolase

XF0832 siroheme synthase

XF0911 stringent starvation protein A (*sspA*)

XF0991 DnaK supressor

XF1038 peptide synthase

XF1241 aconitate hydratase 1 (*acnA*)

XF1368 adenine-specific methylase

XF1385 glycine decarboxylase (*gcvP*)

XF1487 ubiquinone/menaquinone transferase

XF1679 plasmid-related protein (*traN*)

XF1721 putative transcriptional regulator (LysR family)

XF1775 reverse transcriptase (*IS629*)

XF1776 DNA topoisomerase III (*topB*)

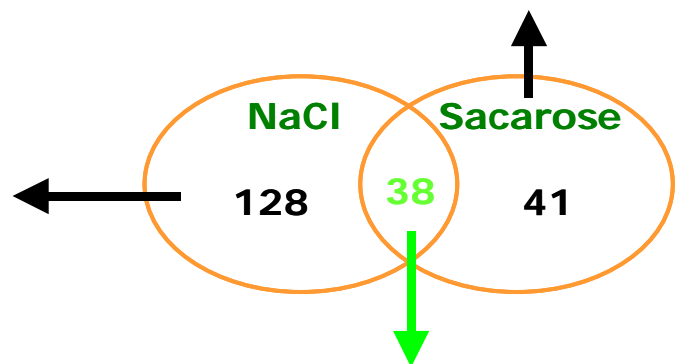
XF2542 fimbrial protein

XF2580 30S ribosomal protein S2 (*rpsB*)

XF2591 polyphosphate kinase (*ppk*)

XF2651 putative RNA methylase

XF2742 type I restriction-modification system DNA methylase (*hsdM*)

**Genes reprimidos no choque salino e osmótico**

XF0010 biopolymer transport ExbB protein (exbB)

XF0012 biopolymer transport ExbD2 protein (*exbD2*)

XF0125 carbon storage regulator (*csrA*)

XF0274 6-phosphofructokinase

XF0275 adenylate kinase

XF0353 translation initiation inhibitor

XF0362 conserved hypothetical protein

XF0381 chaperone (*clpB*)

XF0452 integral membrane protease (*hflK*)

XF0603 cystathionine beta-synthase (*cysB*)

XF0614 conserved hypothetical protein

XF0615 60kDa chaperonin (*groEL*)

XF0616 10kDa chaperonin (*groES*)

XF0975 polyphosphate-selective porin O (oprO)

XF0990 hypothetical protein

XF1037 adenosylhomocysteinase (*ahcY*)

XF1164 50S ribosomal protein L5 (*rplE*)

XF1206 50S ribosomal protein L28 (*rpl28*)

XF1207 50S ribosomal protein L33 (*rpl33*)

XF1210 glutathione S-transferase (*gst*)

XF1262 7,8-dihydro-8-oxoguanine-triphosphatase (*mutX*)

XF1485 heat shock protein (*hslU*)

XF1502 RNA polymerase omega subunit (*rpoZ*)

XF1779 conserved hypothetical protein

XF2118 conserved hypothetical protein

XF2141 ABC transporter phosphate binding protein (*phoX*)

XF2222 histidyl-tRNA synthetase (hisS)

XF2233 DnaJ protein (*dnaJ*)

XF2234 low molecular weight heat shock protein (*hspA*)

XF2241 periplasmic protease (*mucD*)

XF2252 predicted membrane protein

XF2339 DnaJ protein (*dnaJ*)

XF2340 DnaK protein (*dnaK*)

XF2341 heat shock protein GrpE (*grpE*)

XF2409 DNA helicase

XF2423 50S ribosomal protein L27 (*rplmA*)

XF2424 50S ribosomal protein L21 (*rplU*)

XF2587 conserved hypothetical protein

Figura 29: Genes com expressão diminuída nos estresses salino e osmótico em *X. fastidiosa*. Os genes indicados em negrito também foram reprimidos no choque térmico.

Foram observados ainda alguns mecanismos provavelmente envolvidos com o acúmulo de solutos compatíveis na presença de NaCl, como a repressão de genes envolvidos na utilização do glutamato, indicando uma economia deste aminoácido, assim como a indução de um gene que pode estar envolvido na biossíntese de prolina e genes de transportadores de aminoácidos polares. Além disso, genes que alteram a topologia do DNA também apresentaram expressão diferencial, como genes da família H-NS, topoisomerasas e helicases (Figuras 28 e 29). No estresse osmótico, ocorre um aumento do superenovelamento negativo do DNA, que pode controlar a expressão de genes relacionados à resposta ao estresse (Cheung *et al.*, 2003).

No choque osmótico, foi descrito um aumento na proporção de fosfolipídeos aniônicos em relação aos zwitteriônicos, pois a adição de cargas à membrana auxiliaria na manutenção da hidratação da interface (Sleator & Hill, 2002). Nos experimentos realizados, genes relacionados à biossíntese de fosfatidiletanolamina (zwitteriônica) e do fosfatidilglicerol (aniônico) foram induzidos em níveis semelhantes, enquanto um gene relacionado à síntese de fosfatidilcolina foi reprimido. Este fato pode indicar a reposição dos fosfolipídeos devido a danos na membrana causados pelo estresse e possivelmente, um aumento da carga negativa da membrana em *X. fastidiosa* durante o estresse salino. É interessante notar que o gene *psd* envolvido na síntese de fosfatidiletanolamina, que é induzido na presença de NaCl em *Xylella*, é regulado pelo sistema de dois componentes CpxAR em *E. coli* (Rowley *et al.*, 2006), que tem como homólogo putativo em *X. fastidiosa* o gene XF0323. A indução de genes relacionados à biossíntese de peptidoglicano e LPS é também um indicativo do estresse na parede celular bacteriana.

No estresse causado por NaCl, observamos ainda a indução de um gene que codifica uma proteína provavelmente relacionada ao efluxo de íons. Outros genes codificando transportadores como *antiporters* de Na⁺ não apresentaram expressão diferencial. Em *D. vulgaris*, também não foram observadas alterações nos níveis de mensageiro de genes

relacionados ao efluxo de sódio (Mukhopadhyay *et al.*, 2006). É possível que estes genes não sejam regulados em nível de transcrição, visto que o transporte e o efluxo de íons devem ser feitos rapidamente por proteínas já existentes na membrana celular. O mesmo raciocínio pode ser aplicado para a indução de genes relacionados ao canal mecanossensível MscS durante o estresse hiperosmótico, apesar desta proteína ser ativada em condições de estresse hipoosmótico. Conforme descrito em *E.coli* (Stokes *et al.*, 2003), esta indução funcionaria como uma preparação da célula para voltar aos níveis normais de osmolaridade do meio, dado que os canais mecanossensíveis são ativados pela tensão da membrana de modo que o efluxo de solutos e água seja realizado numa escala de nanossegundos e as proteínas já devem estar prontas para responder rapidamente ao estresse.

Destacamos ainda no estresse osmótico e salino, a indução da região do genoma de *Xylella* que apresenta baixo conteúdo GC (XF1914-XF1919), região que inclui genes provavelmente envolvidos na biossíntese de sideróforos. A limitação de ferro em condições de estresse hiperosmótico tem sido descrita em diversas bactérias (Hoffmann *et al.*, 2002). Em *X. fastidiosa*, a resposta provavelmente ocorre através síntese de sideróforos, utilizando a maquinaria de síntese não ribossômica de peptídeos (Xie *et al.*, 2003). Além disso, a proteína de periplasma AfuA ligante de ferro, também deve funcionar como auxiliar na tomada de ferro do meio. Na presença de sacarose, a indução de *ribA* pode ainda auxiliar a redução de Fe^{+3} (Worst *et al.*, 1998). É interessante notar que no choque térmico, genes relacionados ao transporte de íon Fe^{+2} foram induzidos.

Alguns genes relacionados ao estresse oxidativo foram induzidos no estresse por NaCl e sacarose, sendo que um maior número de genes apresentou indução na presença de sal. Experimentos preliminares de exposição a H_2O_2 em *X. fastidiosa* indicaram a indução de um conjunto de genes relacionados à resposta ao estresse oxidativo distintos dos que foram observados no estresse salino e osmótico (J.F. da Silva Neto, T. Koide, S. L. Gomes, M. V. Marques, em preparação).

Em *X. fastidiosa*, foram diferencialmente expressos em resposta a modificações no meio ambiente diversos genes relacionados com patogenicidade, virulência e adaptação. Muitos deles não têm uma função conhecida mas foram caracterizados como relacionados com patogenicidade em outras bactérias, visto que mutantes desses genes causaram a perda e/ou redução da virulência, como *vapD*, XF1020 e *xrvA*. No caso do choque térmico, há diversas evidências de que muitas chaperones moleculares estão envolvidas em outras funções celulares além do dobramento de proteínas, contribuindo para a infecção do hospedeiro (Henderson *et al.*, 2006). É interessante notar que o progresso da doença CVC, causada por *X. fastidiosa*, é mais acentuado nos meses de primavera e verão. Os sintomas da doença apresentam-se mais severos nessa época do ano associada a altas temperaturas, assim como em condições de estresse hídrico (Martins *et al.*, 2000). Pode-se especular que a expressão de alguns genes relacionados à virulência e adaptação induzidos nos estresses testados poderia contribuir, pelo menos em parte, para o sucesso da bactéria na infecção do hospedeiro. Como a resposta a estresses ambientais é de importância primordial para patógenos em geral, este estudo deve auxiliar na compreensão dos mecanismos de virulência e adaptação em *X. fastidiosa*.

V. CONCLUSÕES:

- Os métodos de bioinformática *HTself*, *BayGO* e *SpotWhatR* foram utilizados com sucesso nas análises de dados de microarranjos de DNA e estão disponíveis livremente para outros pesquisadores
- Os genes que apresentaram maior indução no choque térmico codificam chaperones e proteases, com pico de expressão aos 25 minutos. Já no estresse osmótico, os genes codificando proteínas hipotéticas e hipotéticas conservadas apresentaram maiores valores de indução, assim como ocorreram em maior número, indicando uma possível função na resposta a este estresse.
- A partir da determinação do início de transcrição de 6 genes codificando Hsps que foram altamente induzidos, foi proposto um consenso para os promotores dependentes de σ^{32} em *X.fastidiosa*: CTTGAAA (9-14nt) CCNCACAT. Este consenso é semelhante ao consenso de promotores dependentes de σ^{32} de outras bactérias gram-negativas, sugerindo que a regulação desses genes é mediada por σ^{32} . No choque térmico, observou-se também a indução de genes relacionados ao estresse extracitoplasmático, que são regulados pelo fator sigma alternativo σ^E . No choque osmótico e salino, genes codificando a maioria das Hsps foram reprimidos na exposição prolongada a esses estresses, indicando que a resposta não é mediada por σ^{32} ou σ^E .
- Durante os estresses ambientais testados, observou-se a repressão de genes relacionados ao metabolismo intermediário e à síntese protéica, indicando uma atividade metabólica diminuída nesses estresses.
- Detectou-se também alteração na expressão de genes relacionados à virulência: aumento da expressão de toxinas como hemolisinas no choque térmico e colicinas no estresse salino e osmótico, hemaglutininas e outras adesinas nos três estresses testados.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBA, B.M.; GROSS, C.A. Regulation of the *Escherichia coli* sigma-dependent envelope stress response. **Mol Microbiol**, v. 52, n. 3, p. 613-619, 2004.
- ALTSCHUL, S.F.; MADDEN, T.L.; SCHAFFER, A.A.; ZHANG, J.; ZHANG, Z.; MILLER, W.; LIPMAN, D.J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Res**, v. 25, n. 17, p. 3389-3402, 1997.
- ANDREWS, S.C.; ROBINSON, A.K.; RODRIGUEZ-QUINONES, F. Bacterial iron homeostasis. **FEMS Microbiol Rev**, v. 27, n. 3, p. 215-237, 2003.
- ASHBURNER, M.; BALL, C. A.; BLAKE, J. A.; BOTSTEIN, D.; BUTLER, H.; CHERRY, J. M.; DAVIS, A. P.; DOLINSKI, K.; DWIGHT, S. S.; EPPIG, J. T.; HARRIS, M. A.; HILL, D. P.; ISSEL-TARVER, L.; KASARSKIS, A.; LEWIS, S.; MATESE, J. C.; RICHARDSON, J. E.; RINGWALD, M.; RUBIN, G. M.; SHERLOCK, G. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. **Nat Genet**, v. 25, n. 1, p. 25-29, 2000.
- ASPEDON, A.; PALMER, K.; WHITELEY, M. Microarray analysis of the osmotic stress response in *Pseudomonas aeruginosa*. **J Bacteriol**, v. 188, n. 7, p. 2721-2725, 2006.
- AVEDISSIAN, M.; GOMES, S. L. Expression of the *groESL* operon is cell-cycle controlled in *Caulobacter crescentus*. **Mol Microbiol**, v. 19, n. 1, p. 79-89, 1996
- BALDINI, R. L.; AVEDISSIAN, M.; GOMES, S. L. The CIRCE element and its putative repressor control cell cycle expression of the *Caulobacter crescentus groESL* operon. **J Bacteriol**, v. 180, n.7, p. 1632-1641, 1998
- BAPTISTA, C.S.; VENCIO, R.Z.; ABDALA, S.; VALADARES, M.P.; MARTINS, C.; DE BRAGANCA PEREIRA, C.A.; ZINGALES, B. DNA microarrays for comparative genomics and analysis of gene expression in *Trypanosoma cruzi*. **Mol Biochem Parasitol**, v. 138, n. 2, p. 183-194, 2004
- BARRETT, T.; SUZEK, T.O.; TROUP, D.B.; WILHITE, S.E.; NGAU, W.C.; LEDOUX, P.; RUDNEV, D.; LASH, A.E.; FUJIBUCHI, W.; EDGAR, R. NCBI GEO: mining millions of expression profiles--database and tools. **Nucleic Acids Res**, v. 33, p. D562-566, 2005.
- BATEMAN, A.; COIN, L.; DURBIN, R.; FINN, R.D.; HOLLICH, V.; GRIFFITHS-JONES, S.; KHANNA, A.; MARSHALL, M.; MOXON, S.; SONNHAMMER, E.L.; STUDHOLME, D.J.; YEATS, C.; EDDY, S.R. The Pfam protein families database. **Nucleic Acids Res**, v. 32, p. 138-141, 2004
- BERTIN, P.; BENHABILES, N.; KRIN, E.; LAURENT-WINTER, C.; TENDENG, C.; TURLIN, E.; THOMAS, A.; DANCHIN, A.; BRASSEUR, R. The structural and functional organization of H-NS-like proteins is evolutionarily conserved in gram-negative bacteria. **Mol Microbiol**, v. 31, n. 1, p. 319-29, 1999
- BHATTACHARYYA, A.; STILWAGEN, S.; IVANOVA, N.; D'SOUZA, M.; BERNAL, A.; LYKIDIS, A.; KAPATRAL, V.; ANDERSON, I.; LARSEN, N.; LOS, T.; REZNIK, G.; SELKOV, E.; WALUNAS, T.L.; FEIL, H.; FEIL, W.S.; PURCELL, A.; LASSEZ, J.L.; HAWKINS, T.L.; HASELKORN, R.; OVERBEEK, R.; PREDKI, P. F.; KYRPIDES, N.C. Whole-genome comparative analysis of three phytopathogenic *Xylella fastidiosa* strains. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 99, n. 19, p. 12403-12408, 2002

- BHATTACHARYYA, A.; STILWAGEN, S.; REZNIK, G.; FEIL, H.; FEIL, W.S.; ANDERSON, I.; BERNAL, A.; D'SOUZA, M.; IVANOVA, N.; KAPATRAL, V.; LARSEN, N.; LOS, T.; LYKIDIS, A.; SELKOV, E.; WALUNAS, T.L.; PURCELL, A.; EDWARDS, R.A.; HAWKINS, T.; HASELKORN, R.; OVERBEEK, R.; KYRPIDES, N.C.; PREDKI, P.F. Draft sequencing and comparative genomics of *Xylella fastidiosa* strains reveal novel biological insights. **Genome Res**, v. 12, n. 10, p. 1556-1563, 2002
- BIANCHI, A.A.; BANEYX, F. Hyperosmotic shock induces the σ^{32} and σ^E stress regulons of *Escherichia coli*. **Mol Microbiol**, v. 34, n. 5, p. 1029-1038, 1999.
- BLASZCZAK, A.; ZYLICZ, M.; GEORGOPOULOS, C.; LIBEREK, K. Both ambient temperature and the DnaK chaperone machine modulate the heat shock response in *Escherichia coli* by regulating the switch between σ^{70} and σ^{32} factors assembled with RNA polymerase. **Embo J**, v. 14, n.20, p. 5085-5093, 1995.
- BOOTH, I.R.; LOUIS, P. Managing hypoosmotic stress: aquaporins and mechanosensitive channels in *Escherichia coli*. **Curr Opin Microbiol**, v. 2, n. 2, p. 166-169, 1999
- BOWTELL, D.D. Options available--from start to finish--for obtaining expression data by microarray. **Nat Genet**, v. 21, p. 25-32, 1999.
- BREMER, E.; KRÄMER, R. Coping with osmotic challenges: osmoregulation through accumulation and release of compatible solutes in bacteria. In: STORZ, G.; HENGGE-ARONIS, R. **Bacterial Stress Responses**. Washington DC: ASM Press, p. 79-96, 2000.
- BUCK, M.; GALLEGOS, M.T.; STUDHOLME, D.J.; GUO, Y.; GRALLA, J.D. The bacterial enhancer-dependent σ^{54} transcription factor. **J Bacteriol**, v. 182, n. 15, p. 4129-4136, 2000.
- CAVALIERI, D.; DE FILIPPO, C. Bioinformatic methods for integrating whole-genome expression results into cellular networks. **Drug Discov Today**, v. 10, n. 10, p. 727-734, 2005
- CHEUNG, K.J.; BADARINARAYANA, V.; SELINGER, D.W.; JANSE, D.; CHURCH, G.M. A microarray-based antibiotic screen identifies a regulatory role for supercoiling in the osmotic stress response of *Escherichia coli*. **Genome Res**, v. 13, n. 2, p. 206-215, 2003.
- CHUAQUI, R.F.; BONNER, R.F.; BEST, C.J.; GILLESPIE, J.W.; FLAIG, M.J.; HEWITT, S.M.; PHILLIPS, J.L.; KRIZMAN, D.B.; TANGREA, M.A.; AHRAM, M.; LINEHAN, W.M.; KNEZEVIC, V.; EMMERT-BUCK, M.R. Post-analysis follow-up and validation of microarray experiments. **Nat Genet**, v. 32, p. 509-514, 2002
- COLLINS, T.; GERDAY, C.; FELLER, G. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. **FEMS Microbiol Lett**, v. 29, n. 1, p. 3-23, 2005.
- COSTA DE OLIVEIRA, R.; YANAI, G.M.; MUTO, N.H.; LEITE, D.B.; DE SOUZA, A.A.; COLETTA FILHO, H.D.; MACHADO, M.A.; NUNES, L.R. Competitive hybridization on spotted microarrays as a tool to conduct comparative genomic analyses of *Xylella fastidiosa* strains. **FEMS Microbiol Lett**, v. 216, n. 1, p. 15-21, 2002.
- CUI, X.; CHURCHILL, G.A. Statistical tests for differential expression in cDNA microarray experiments. **Genome Biol**, v. 4, n. 4, p. 210, 2003.
- DA SILVA NETO, J.F.; KOIDE, T.; GOMES, S.L.; MARQUES, M.V. Site-directed gene disruption in *Xylella fastidiosa*. **FEMS Microbiol Lett**, v. 210, n. 1, p. 105-110.

- DA SILVA NETO, J.F.; KOIDE, T.; GOMES, S.L.; MARQUES, M.V. The single ECF sigma factor of *Xylella fastidiosa* is involved in the heat shock response and presents an unusual regulatory mechanism. Sumetido.
- DA SILVA, A.C.; SIMAO, R.C.; SUSIN, M.F.; BALDINI, R.L.; AVEDISSIAN, M.; GOMES, S.L. Downregulation of the heat shock response is independent of DnaK and σ^{32} levels in *Caulobacter crescentus*. **Mol Microbiol**, v. 49, n. 2, p. 541-553, 2003.
- DATTA, S. Comparisons and validation of statistical clustering techniques for microarray gene expression data. **Bioinformatics**, v. 19, n. 4, p. 459-466, 2003.
- DAVIS, M.J.; FRENCH, W.J.; SCHAAD, N.W. Axenic culture of the bacteria associated with phony disease of peach and plum leaf scald. **Curr Microbiol**, v. 6, n. 5, p. 309-314, 1981.
- DE SOUZA, A.A.; TAKITA, M.A.; COLETTA-FILHO, H.D.; CALDANA, C.; GOLDMAN, G.H.; YANAI, G.M.; MUTO, N.H.; DE OLIVEIRA, R.C.; NUNES, L.R.; MACHADO, M.A. Analysis of gene expression in two growth states of *Xylella fastidiosa* and its relationship with pathogenicity. **Mol Plant Microbe Interact**, v. 16, n. 10, p. 867-875, 2003.
- DE SOUZA, A.A.; TAKITA, M.A.; COLETTA-FILHO, H.D.; CALDANA, C.; YANAI, G.M.; MUTO, N.H.; DE OLIVEIRA, R.C.; NUNES, L.R.; MACHADO, M.A. Gene expression profile of the plant pathogen *Xylella fastidiosa* during biofilm formation *in vitro*. **FEMS Microbiol Lett**, v. 237, n. 2, p. 341-353.
- DEKKERS, L.C.; BLOEMENDAAL, C.J.; DE WEGER, L.A.; WIJFFELMAN, C.A.; SPAINK, H.P.; LUGTENBERG, B.J. A two-component system plays an important role in the root-colonizing ability of *Pseudomonas fluorescens* strain WCS365. **Mol Plant Microbe Interact**, v. 11, n. 1, p. 45-56, 1998.
- DOW, J.M.; DANIELS, M.J. *Xylella* genomics and bacterial pathogenicity to plants. **Yeast**, v. 17, n. 4, p. 263-271, 2000.
- DUGGAN, D.J.; BITTNER, M.; CHEN, Y.; MELTZER, P.; TRENT, J.M. Expression profiling using cDNA microarrays. **Nat Genet**, v. 21, p. 10-14, 1999.
- EZRATY, B.; AUSSEL, L.; BARRAS, F. Methionine sulfoxide reductases in prokaryotes. **Biochim Biophys Acta**, v. 1703, n. 2, p. 221-229, 2005.
- FEIL, H.; FEIL, W.S.; DETTER, J.C.; PURCELL, A.; LINDOW, S.E. Site-directed disruption of the *fimA* and *fimF* fimbrial genes of *Xylella fastidiosa*. **Phytopathology**, v. 93, p. 675-682.
- GAO, H.; WANG, Y.; LIU, X.; YAN, T.; WU, L.; ALM, E.; ARKIN, A.; THOMPSON, D. K.; ZHOU, J. Global transcriptome analysis of the heat shock response of *Shewanella oneidensis*. **J Bacteriol**, v. 186, n. 22, p. 7796-7803, 2004.
- GENTSCHKEV, I.; DIETRICH, G.; GOEBEL, W. The *E. coli* alpha-hemolysin secretion system and its use in vaccine development. **Trends Microbiol**, v. 10, n. 1, p. 39-45, 2000.
- GOODMAN, L.; KRUSKAL, W. Measures of association for cross classifications. **Journal of the American Statistical Association**, v. 49, p. 732-764, 1954.
- GROISMAN, E.A. The pleiotropic two-component regulatory system PhoP-PhoQ. **J Bacteriol**, v. 183, n. 6, p. 1835-42, 2001.
- GROSS, C.A. Function and regulation of the heat shock proteins. In: NEIDHARDT, F.C. **Escherichia coli and Salmonella: Cellular and Molecular Biology**. ASM Press, p. 1382-1399, 1996.
- GRUBER, T.M.; GROSS, C.A. Multiple sigma subunits and the partitioning of bacterial transcription space. **Annu Rev Microbiol**, v. 57, p. 441-66, 2003.

- GUCKENBERGER, M.; KURZ, S.; AEPINUS, C.; THEISS, S.; HALLER, S.; LEIMBACH, T.; PANZNER, U.; WEBER, J.; PAUL, H.; UNKMEIR, A.; FROSCH, M.; DIETRICH, G. Analysis of the heat shock response of *Neisseria meningitidis* with cDNA- and oligonucleotide-based DNA microarrays. **J Bacteriol**, v. 184, n. 9, p. 2546-2551, 2004.
- GUILHABERT, M.R.; KIRKPATRICK, B.C. Identification of *Xylella fastidiosa* antivirulence genes: hemagglutinin adhesins contribute to biofilm maturation and colonization and attenuate virulence. **Mol Plant Microbe Interact**, v. 18, n. 8, p. 856-868, 2005.
- GUILHABERT, M.R.; HOFFMAN, L.M.; MILLS, D.A.; KIRKPATRICK, B.C. Transposon mutagenesis of *Xylella fastidiosa* by electroporation of Tn5 synaptic complexes. **Mol Plant Microbe Interact**, v. 14, n. 6, p. 701-706, 2001.
- GUISBERT, E.; HERMAN, C.; LU, C.Z.; GROSS, C.A. A chaperone network controls the heat shock response in *E. coli*. **Genes Dev**, v. 18, n. 22, p. 2812-21, 2004.
- HAN, Y.; ZHOU, D.; PANG, X.; ZHANG, L.; SONG, Y.; TONG, Z.; BAO, J.; DAI, E.; WANG, J.; GUO, Z.; ZHAI, J.; DU, Z.; WANG, X.; HUANG, P.; YANG, R. Comparative transcriptome analysis of *Yersinia pestis* in response to hyperosmotic and high-salinity stress. **Res Microbiol**, v. 156, n. 3, p. 403-415, 2005.
- HARLEY, C.B.; REYNOLDS, R.P. Analysis of *E. coli* promoter sequences. **Nucleic Acids Res**, v. 15, n. 5, p. 2343-2361, 1987.
- HEERMANN, R.; JUNG, K. Structural features and mechanisms for sensing high osmolarity in microorganisms. **Curr Opin Microbiol**, v. 7, n. 2, p. 168-174, 2004.
- HELMANN, J.D.; WU, M.F.; KOBEL, P.A.; GAMO, F.J.; WILSON, M.; MORSHEDI, M.M.; NAVRE, M.; PADDON, C. Global transcriptional response of *Bacillus subtilis* to heat shock. **J Bacteriol**, v. 183, n. 24, p. 7318-7328, 2001.
- HENDERSON, B.; ALLAN, E.; COATES, A. R. Stress wars: the direct role of host and bacterial molecular chaperones in bacterial infection. **Infect Immun**, v. 74, n. 7, p. 3693-3706, 2006.
- HOFFMANN, T.; SCHUTZ, A.; BROSIUS, M.; VOLKER, A.; VOLKER, U.; BREMER, E. High-salinity-induced iron limitation in *Bacillus subtilis*. **J Bacteriol**, v. 184, n. 3, p. 718-727, 2002.
- HOHEISEL, J.D. Microarray technology: beyond transcript profiling and genotype analysis. **Nat Rev Genet**, v. 7, n. 3, p. 200-210, 2006.
- HOLLOWAY, A.J.; VAN LAAR, R.K.; TOTHILL, R.W. ; BOWTELL, D.D. Options available--from start to finish--for obtaining data from DNA microarrays II. **Nat Genet**, v. 32, p. 481-489, 2002
- HOPKINS, D.L. *Xylella fastidiosa*: xylem limited bacterial pathogens of plants. **Annu Rev Phytopathol**, v. 27, p. 271-290, 1989.
- HUERTA, A.M.; COLLADO-VIDES, J. σ^{70} promoters in *Escherichia coli*: specific transcription in dense regions of overlapping promoter-like signals. **J Mol Biol**, v. 333, n. 2, p. 261-78, 2003.
- HUGOUVIEUX-COTTE-PATTAT, N.; CONDEMINE, G.; NASSER, W.; REVERCHON, S. Regulation of pectinolysis in *Erwinia chrysanthemi*. **Annu Rev Microbiol**, v. 50, p. 213-57, 1996.
- JISHAGE, M.; KVINT, K.; SHINGLER, V. ; NYSTROM, T. Regulation of sigma factor competition by the alarmone ppGpp. **Genes Dev**, v. 16, n. 10, p. 1260-1270, 2002.
- KANEHISA, M.; GOTO, S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. **Nucleic Acids Res**, v. 28, n. 1, p. 27-30, 2000.

- KATZ, M.E.; STRUGNELL, R.A.; ROOD, J.I. Molecular characterization of a genomic region associated with virulence in *Dichelobacter nodosus*. **Infect Immun**, v. 60, n. 11, p. 4586-4592, 1992.
- KAZMIERCZAK, M.J.; WIEDMANN, M.; BOOR, K.J. Alternative sigma factors and their roles in bacterial virulence. **Microbiol Mol Biol Rev**, v. 69, n. 4, p. 527-543, 2005.
- KHATRI, P.; DRAGHICI, S. Ontological analysis of gene expression data: current tools, limitations, and open problems. **Bioinformatics**, v. 21, n. 18, p. 3587-3595, 2005.
- KIM, C.C.; JOYCE, E.A.; CHAN, K.; FALKOW, S. Improved analytical methods for microarray-based genome-composition analysis. **Genome Biol**, v. 3, n. 11, p. 65, 2002.
- KOIDE, T.; DA SILVA NETO, J.F.; GOMES, S.L. ; MARQUES, M.V. Insertional transposon mutagenesis in the *Xylella fastidiosa* Citrus Variegated Chlorosis strain with transposome. **Curr Microbiol**, v. 48, n. 4, p. 247-250, 2004.
- KOIDE, T.; ZAINI, P.A.; MOREIRA, L.M.; VENCIO, R.Z.; MATSUKUMA, A.Y.; DURHAM, A.M.; TEIXEIRA, D.C.; EL-DORRY, H.; MONTEIRO, P.B.; DA SILVA, A.C.; VERJOVSKI-ALMEIDA, S.; DA SILVA, A.M.; GOMES, S.L. DNA microarray-based genome comparison of a pathogenic and a nonpathogenic strain of *Xylella fastidiosa* delineates genes important for bacterial virulence. **J Bacteriol**, v. 186, n. 16, p. 5442-5449, 2004.
- KOIDE, T.; SALEM-IZACC, S.M.; GOMES, S.L.; VENCIO, R.Z. SpotWhatR: a user-friendly microarray data analysis system. **Genet Mol Res**, v. 5, p. 93-107, 2006a.
- KOIDE, T.; VENCIO, R.Z. ; GOMES, S.L. Global gene expression analysis of the heat shock response in the phytopathogen *Xylella fastidiosa*. **J Bacteriol**, no prelo. 2006b.
- LAMBAIS, M.R.; GOLDMAN, M.H.; CAMARGO, L.E.; GOLDMAN, G.H. A genomic approach to the understanding of *Xylella fastidiosa* pathogenicity. **Curr Opin Microbiol**, v. 3, n. 5, p. 459-462, 2000.
- LEE, E. J.; KAROONUTHAISIRI, N.; KIM, H.S.; PARK, J.H.; CHA, C.J.; KAO, C.M.; ROE, J.H. A master regulator σ^B governs osmotic and oxidative response as well as differentiation via a network of sigma factors in *Streptomyces coelicolor*. **Mol Microbiol**, v. 57, n.5, p. 1252-1264, 2005.
- LEE, R.F.; DERRICK, K.S.; BERETTA, M.J.G.; AL, E. Citrus variegated chlorosis: a new destructive disease of citrus in Brazil. **Citrus Ind.**, v. 72, p. 12-15, 1991.
- LEE, Y.; PENA-LLOPIS, S.; KANG, Y.S.; SHIN, H.D.; DEMPPE, B.; MADSEN, E.L.; JEON, C.O. ; PARK, W. Expression analysis of the *fpr* (ferredoxin-NADP⁺ reductase) gene in *Pseudomonas putida* KT2440. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 339, n. 4, p. 1246-1254, 2006.
- LINDQUIST, S.; CRAIG, E.A. The heat-shock proteins. **Annu Rev Genet**, v. 22, p. 631-677, 1988.
- LIU, Y.; GAO, W.; WANG, Y.; WU, L.; LIU, X.; YAN, T.; ALM, E.; ARKIN, A.; THOMPSON, D.K.; FIELDS, M.W. ; ZHOU, J. Transcriptome analysis of *Shewanella oneidensis* MR-1 in response to elevated salt conditions. **J Bacteriol**, v. 187, n. 7, p. 2501-2507, 2005.
- LIVAK, K.J.; SCHMITTGEN, T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ Method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402-408, 2001.
- MARQUES, M.V.; DA SILVA, A.M.; GOMES, S.L. Genetic organization of plasmid pXF51 from the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. **Plasmid**, v. 45, n. 3, p. 184-199, 2001.
- MARTINS, M.L.; CEOTTO, G.; ALVES, S.G.; BUFON, C.C.; SILVA, J.M.; LARANJEIRA, F.F. Cellular automata model for citrus variegated chlorosis. **Phys Rev E Stat Phys**, v. 62, p. 7024-7030, 2000.
- MATTICK, J. S. Type IV pili and twitching motility. **Annu Rev Microbiol**, v. 56, p. 289-314, 2002.

- MEIDANIS, J.; BRAGA, M.D. ; VERJOVSKI-ALMEIDA, S. Whole-genome analysis of transporters in the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. **Microbiol Mol Biol Rev**, v. 66, n. 2, p. 272-299, 2002.
- MONTEIRO, P.B.; TEIXEIRA, D.C.; PALMA, R.R.; GARNIER, M.; BOVE, J.M.; RENAUDIN, J. Stable transformation of the *Xylella fastidiosa* citrus variegated chlorosis strain with *oriC* plasmids. **Appl Environ Microbiol**, v. 67, n. 5, p. 2263-2269, 2001.
- MORITA, M.T.; TANAKA, Y.; KODAMA, T.S.; KYOGOKU, Y.; YANAGI, H.; YURA, T. Translational induction of heat shock transcription factor σ^{32} : evidence for a built-in RNA thermosensor. **Genes Dev**, v. 13, n. 6, p. 655-665, 1999.
- MOTIN, V.L.; GEORGESCU, A. M.; FITCH, J.P.; GU, P.P.; NELSON, D.O.; MABERY, S.L.; GARNHAM, J.B.; SOKHANSANJ, B.A.; OTT, L.L.; COLEMAN, M.A.; ELLIOTT, J.M.; KEGELMEYER, L.M.; WYROBEK, A.J.; SLEZAK, T.R.; BRUBAKER, R.R.; GARCIA, E. Temporal global changes in gene expression during temperature transition in *Yersinia pestis*. **J Bacteriol**, v. 186, n. 18, p. 6298-6305, 2004.
- MUKHOPADHYAY, A.; HE, Z.; ALM, E.J.; ARKIN, A.P.; BAIDOO, E.E.; BORGLIN, S.C.; CHEN, W.; HAZEN, T.C.; HE, Q.; HOLMAN, H.Y.; HUANG, K.; HUANG, R.; JOYNER, D.C.; KATZ, N.; KELLER, M.; OELLER, P.; REDDING, A.; SUN, J.; WALL, J.; WEI, J.; YANG, Z.; YEN, H.C.; ZHOU, J.; KEASLING, J.D. Salt stress in *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough: an integrated genomics approach. **J Bacteriol**, v. 188, n. 11, p. 4068-4078, 2006.
- MUNCHBACH, M.; DAINESE, P.; STAUDENMANN, W.; NARBERHAUS, F.; JAMES, P. Proteome analysis of heat shock protein expression in *Bradyrhizobium japonicum*. **Eur J Biochem**, v. 264, n. 1, p. 39-48, 1999.
- NADON, R.; SHOEMAKER, J. Statistical issues with microarrays: processing and analysis. **Trends Genet**, v. 18, n. 5, p. 265-71, 2002.
- NAKAHIGASHI, K.; RON, E.Z.; YANAGI, H.; YURA, T. Differential and independent roles of a σ^{32} homolog (RpoH) and an HrcA repressor in the heat shock response of *Agrobacterium tumefaciens*. **J Bacteriol**, v. 181, n. 24, p. 7509-7515, 1999.
- NEWMAN, K.L.; ALMEIDA, R.P.; PURCELL, A.H.; LINDOW, S.E. Cell-cell signaling controls *Xylella fastidiosa* interactions with both insects and plants. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 101, n. 6, p. 1737-1742, 2004.
- NUNES, L.R.; ROSATO, Y.B.; MUTO, N.H.; YANAI, G.M.; DA SILVA, V S.; LEITE, D.B.; GONCALVES, E.R.; DE SOUZA, A.A.; COLETTA-FILHO, H.D.; MACHADO, M.A.; LOPES, S.A.; DE OLIVEIRA, R.C. Microarray analyses of *Xylella fastidiosa* provide evidence of coordinated transcription control of laterally transferred elements. **Genome Res**, v. 13, n. 4, p. 570-8, 2003.
- OJAIMI, C.; BROOKS, C.; CASJENS, S.; ROSA, P.; ELIAS, A.; BARBOUR, A.; JASINSKAS, A.; BENACH, J.; KATONA, L.; RADOLF, J.; CAIMANO, M.; SKARE, J.; SWINGLE, K.; AKINS, D.; SCHWARTZ, I. Profiling of temperature-induced changes in *Borrelia burgdorferi* gene expression by using whole genome arrays. **Infect Immun**, v. 71, n. 4, p. 1689-1705, 2003.
- OSBOURN, A.E.; CLARKE, B.R.; DANIELS, M.J. Identification and DNA sequence of a pathogenicity gene of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. **Mol Plant Microbe Interact**, v. 3, n. 5, p. 280-285, 1990.
- OTANI, M.; TABATA, J.; UEKI, T.; SANO, K.; INOUE, S. Heat-shock-induced proteins from *Myxococcus xanthus*. **J Bacteriol**, v. 183, n. 21, p. 6282-6287, 2001.

- PADAN, E.; KRULWICH, T.A. Sodium Stress. In: STORZ.G.; HENGGE-ARONIS, R.. **Bacterial Stress Responses**. ASM Press, p. 117-130, 2000.
- PAGET, M.S.; HELMANN, J.D. The σ^{70} family of sigma factors. **Genome Biol**, v. 4, n. 1, p. 203, 2003.
- PAPINI-TERZI, F.S.; ROCHA, F.R.; VENCIO, R.Z.; OLIVEIRA, K.C.; FELIX JDE, M.; VICENTINI, R.; ROCHA, S.; SIMOES, A.C.; ULIAN, E.C.; DI MAURO, S.M.; DA SILVA, A.M.; PEREIRA, C.A.; MENOSSI, M. ; SOUZA, G.M. Transcription profiling of signal transduction-related genes in sugarcane tissues. **DNA Res**, v. 12, n. 1, p. 27-38, 2005.
- PASHALIDIS, S.; MOREIRA, L.M.; ZAINI, P.A.; CAMPANHARO, J.C.; ALVES, L.M.; CIAPINA, L.P.; VENCIO, R.Z.; LEMOS, E.G.; DA SILVA, A.M.; DA SILVA, A.C. Whole-genome expression profiling of *Xylella fastidiosa* in response to growth on glucose. **Omics**, v. 9, n. 1, p. 77-90, 2005.
- PAUL, B.J.; ROSS, W.; GAAL, T. ; GOURSE, R.L. rRNA transcription in *Escherichia coli*. **Annu Rev Genet**, v. 38, p. 749-770, 2004.
- POOLE, L.B. Bacterial defenses against oxidants: mechanistic features of cysteine-based peroxidases and their flavoprotein reductases. **Arch Biochem Biophys**, v. 433, n. 1, p. 240-254, 2005.
- QUACKENBUSH, J. Computational analysis of microarray data. **Nat Rev Genet**, v. 2, n. 6, p. 418-427, 2001.
- QUACKENBUSH, J. Microarray data normalization and transformation. **Nat Genet**, v. 32, p. 496-501, 2002.
- RAIVIO, T.L. Envelope stress responses and Gram-negative bacterial pathogenesis. **Mol Microbiol**, v. 56, n. 5, p. 1119-1128, 2005.
- RAIVIO, T.L.; SILHAVY, T.J. Periplasmic stress and ECF sigma factors. **Annu Rev Microbiol**, v. 55, p. 591-624, 2001.
- RAMOS, J.L.; MARTINEZ-BUENO, M.; MOLINA-HENARES, A.J.; TERAN, W.; WATANABE, K.; ZHANG, X.; GALLEGOS, M.T.; BRENNAN, R.; TOBES, R. The TetR family of transcriptional repressors. **Microbiol Mol Biol Rev**, v. 69, n. 2, p. 326-356, 2005.
- REDAK, R.A.; PURCELL, A.H.; LOPES, J.R.; BLUA, M.J.; MIZELL, R.F.; 3RD ; ANDERSEN, P.C. The biology of xylem fluid-feeding insect vectors of *Xylella fastidiosa* and their relation to disease epidemiology. **Annu Rev Entomol**, v. 49, p. 243-270, 2004.
- REZUCHOVA, B.; MITICKA, H.; HOMEROVA, D.; ROBERTS, M.; KORMANEC, J. New members of the *Escherichia coli* σ^E regulon identified by a two-plasmid system. **FEMS Microbiol Lett**, v. 225, n. 1, p. 1-7, 2003.
- RHODIUS, V.A.; SUH, W.C.; NONAKA, G.; WEST, J.; GROSS, C.A. Conserved and variable functions of the σ^E stress response in related genomes. **PLoS Biol**, v. 4, n. 1, p. e2, 2006.
- RICHMOND, C.S.; GLASNER, J.D.; MAU, R.; JIN, H.; BLATTNER, F.R. Genome-wide expression profiling in *Escherichia coli* K-12. **Nucleic Acids Res**, v. 27, n. 19, p. 3821-3835, 1999.
- ROESSLER, M.; SEWALD, X.; MULLER, V. Chloride dependence of growth in bacteria. **FEMS Microbiol Lett**, v. 225, n. 1, p. 161-165, 2003.
- ROSEN, R.; BUTTNER, K.; BECHER, D.; NAKAHIGASHI, K.; YURA, T.; HECKER, M.; RON, E.Z. Heat shock proteome of *Agrobacterium tumefaciens*: evidence for new control systems. **J Bacteriol**, v. 184, n. 6, p. 1772-1778, 2002.
- ROSSETI, V.; GARNIER, M.; BOVE, J.M.; BERETTA, M.J.G.; TEIXEIRA, A.R.R.; QUAGGIO, J.A.; DE NIGRI, J.D. Présence de bactérie dans le xyllème d'orangers atteints de chlorose variégée, une nouvelle maladie des agrumes au Brésil. **C. R. Acad. Sci. Ser**, v. III, n. 310, p. 345-349, 1990.

- ROWLEY, G.; SPECTOR, M.; KORMANEC, J.; ROBERTS, M. Pushing the envelope: extracytoplasmic stress responses in bacterial pathogens. **Nat Rev Microbiol**, v. 4, n. 5, p. 383-394, 2006.
- ROZEN, S.; SKALETSKY, H. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. **Methods Mol Biol**, v. 132, p. 365-386, 2000.
- SANDKVIST, M. Type II secretion and pathogenesis. **Infect Immun**, v. 69, n. 6, p. 3523-3535, 2001.
- SCHENA, M.; SHALON, D.; DAVIS, R.W.; BROWN, P.O. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. **Science**, v. 270, n. 5235, p. 467-470, 1995.
- SCHUMANN, W. The *Bacillus subtilis* heat shock stimulon. **Cell Stress Chaperones**, v. 8, n. 3, p. 207-17, 2003.
- SEREBRIJSKI, I.; WOJCIK, F.; REYES, O.; LEBLON, G. Multicopy suppression by *asd* gene and osmotic stress-dependent complementation by heterologous *proA* in *proA* mutants. **J Bacteriol**, v. 177, n. 24, p. 7255-7560, 1995.
- SETUBAL, J.C.; MOREIRA, L.M.; DA SILVA, A.C. Bacterial phytopathogens and genome science. **Curr Opin Microbiol**, v. 8, n. 5, p. 595-600, 2005.
- SILVERMAN, B.W. **Density Estimation**. London, Chapman and Hall, 1986.
- SIMAO, R.C.; SUSIN, M.F.; ALVAREZ-MARTINEZ, C.E.; GOMES, S.L. Cells lacking ClpB display a prolonged shutoff phase of the heat shock response in *Caulobacter crescentus*. **Mol Microbiol**, v. 57, n. 2, p.592-603, 2005.
- SIMPSON, A.J.; REINACH, F.C.; ARRUDA, P.; ABREU, F.A.; ACENCIO, M.; ALVARENGA, R.; ALVES, L.M.; ARAYA, J.E.; BAIA, G.S.; BAPTISTA, C.S.; BARROS, M.H.; BONACCORSI, E.D.; BORDIN, S.; BOVE, J.M.; BRIONES, M.R.; BUENO, M.R.; CAMARGO, A.A.; CAMARGO, L.E.; CARRARO, D.M.; CARRER, H.; COLAUTO, N.B.; COLOMBO, C.; COSTA, F.F.; COSTA, M.C.; COSTA-NETO, C.M.; COUTINHO, L.L.; CRISTOFANI, M.; DIAS-NETO, E.; DOCENA, C.; EL-DORRY, H.; FACINCANI, A.P.; FERREIRA, A.J.; FERREIRA, V.C.; FERRO, J.A.; FRAGA, J.S.; FRANCA, S.C.; FRANCO, M.C.; FROHME, M.; FURLAN, L.R.; GARNIER, M.; GOLDMAN, G.H.; GOLDMAN, M.H.; GOMES, S.L.; GRUBER, A.; HO, P.L.; HOHEISEL, J.D.; JUNQUEIRA, M.L.; KEMPER, E.L.; KITAJIMA, J.P.; KRIEGER, J.E.; KURAMAE, E.E.; LAIGRET, F.; LAMBAIS, M.R.; LEITE, L.C.; LEMOS, E.G.; LEMOS, M.V.; LOPES, S.A.; LOPES, C.R.; MACHADO, J.A.; MACHADO, M.A.; MADEIRA, A.M.; MADEIRA, H.M.; MARINO, C.L.; MARQUES, M.V.; MARTINS, E.A.; MARTINS, E.M.; MATSUKUMA, A.Y.; MENCK, C.F.; MIRACCA, E.C.; MIYAKI, C.Y.; MONTERIRO-VITORELLO, C.B.; MOON, D.H.; NAGAI, M.A.; NASCIMENTO, A.L.; NETTO, L.E.; NHANI, A.; JR.; NOBREGA, F.G.; NUNES, L.R.; OLIVEIRA, M.A.; DE OLIVEIRA, M.C.; DE OLIVEIRA, R.C.; PALMIERI, D.A.; PARIS, A.; PEIXOTO, B.R.; PEREIRA, G.A.; PEREIRA, H.A.; JR.; PESQUERO, J.B.; QUAGGIO, R.B.; ROBERTO, P.G.; RODRIGUES, V.; DE, M.R.A.J.; DE ROSA, V.E.; JR.; DE SA, R.G.; SANTELLI, R.V.; SAWASAKI, H.E.; DA SILVA, A.C.; DA SILVA, A.M.; DA SILVA, F.R.; DA SILVA, W.A.; JR.; DA SILVEIRA, J.F.; SILVESTRI, M.L.; SIQUEIRA, W.J.; DE SOUZA, A.A.; DE SOUZA, A.P.; TERENCE, M.F.; TRUFFI, D.; TSAI, S.M.; TSUHAKO, M.H.; VALLADA, H.; VAN SLUYS, M.A.; VERJOVSKI-ALMEIDA, S.; VETTORE, A.L.; ZAGO, M.A.; ZATZ, M.; MEIDANIS, J.; SETUBAL, J.C. The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. **Nature**, v. 406, n. 6792, p. 151-157, 2000.
- SLEATOR, R.D.; HILL, C. Bacterial osmoadaptation: the role of osmolytes in bacterial stress and virulence. **FEMS Microbiol Rev**, v. 26, n. 1, p. 49-71, 2000.

- SLONIM, D.K. From patterns to pathways: gene expression data analysis comes of age. **Nat Genet**, v. 32, p. 502-508, 2002.
- SMOLKA, M.B.; MARTINS, D.; WINCK, F.V.; SANTORO, C.E.; CASTELLARI, R.R.; FERRARI, F.; BRUM, I.J.; GALEMBECK, E.; COLETTA FILHO, H.; MACHADO, M.A.; MARANGONI, S.; NOVELLO, J.C. Proteome analysis of the plant pathogen *Xylella fastidiosa* reveals major cellular and extracellular proteins and a peculiar codon bias distribution. **Proteomics**, v. 3, n. 2, p. 224-237, 2003.
- SMOOT, L.M.; SMOOT, J.C.; GRAHAM, M.R.; SOMERVILLE, G.A.; STURDEVANT, D.E.; MIGLIACCIO, C.A.; SYLVA, G.L.; MUSSER, J.M. Global differential gene expression in response to growth temperature alteration in group A *Streptococcus*. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 98, n. 18, p. 10416-10421, 2001.
- SOBALLE, B.; POOLE, R.K. Microbial ubiquinones: multiple roles in respiration, gene regulation and oxidative stress management. **Microbiology**, v. 145, p. 1817-1830, 1999.
- STEIL, L.; HOFFMANN, T.; BUDDE, I.; VOLKER, U.; BREMER, E. Genome-wide transcriptional profiling analysis of adaptation of *Bacillus subtilis* to high salinity. **J Bacteriol**, v. 185, n. 21, p. 6358-70, 2003.
- STINTZI, A. Gene expression profile of *Campylobacter jejuni* in response to growth temperature variation. **J Bacteriol**, v. 185, n. 6, p. 2009-2016, 2003.
- STOKES, N.R.; MURRAY, H.D.; SUBRAMANIAM, C.; GOURSE, R.L.; LOUIS, P.; BARTLETT, W.; MILLER, S.; BOOTH, I.R. A role for mechanosensitive channels in survival of stationary phase: regulation of channel expression by RpoS. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 100, n. 26, p. 15959-15964, 2003.
- STOLOVITZKY, G. Gene selection in microarray data: the elephant, the blind men and our algorithms. **Curr Opin Struct Biol**, v. 13, n. 3, p. 370-376, 2003.
- THONY-MEYER, L.; FISCHER, F.; KUNZLER, P.; RITZ, D.; HENNECKE, H. *Escherichia coli* genes required for cytochrome c maturation. **J Bacteriol**, v. 177, n. 15, p. 4321-4326, 1995.
- TROYANSKAYA, O.G.; GARBER, M.E.; BROWN, P.O.; BOTSTEIN, D.; ALTMAN, R.B. Nonparametric methods for identifying differentially expressed genes in microarray data. **Bioinformatics**, v. 18, n. 11, p. 1454-1461, 2002.
- TU, Y.; STOLOVITZKY, G.; KLEIN, U. Quantitative noise analysis for gene expression microarray experiments. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 99, n. 22, p. 14031-14036, 2002
- TUSHER, V.G.; TIBSHIRANI, R.; CHU, G. Significance analysis of microarrays applied to the ionizing radiation response. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 98, n. 9, p. 5116-5121.
- VAN DE PEPPEL, J.; KEMMEREN, P.; VAN BAKEL, H.; RADONJIC, M.; VAN LEENEN, D.; HOLSTEGE, F.C. Monitoring global messenger RNA changes in externally controlled microarray experiments. **EMBO Rep**, v. 4, n. 4, p. 387-393, 2003.
- VAN DER WERF, M. J.; PIETERSE, B.; VAN LUIJK, N.; SCHUREN, F.; VAN DER WERFF-VAN DER VAT, B.; OVERKAMP, K. ; JELLEMA, R.H. Multivariate analysis of microarray data by principal component discriminant analysis: prioritizing relevant transcripts linked to the degradation of different carbohydrates in *Pseudomonas putida* S12. **Microbiology**, v. 152, p. 257-272, 2006.
- VAN HELDEN, J. Regulatory sequence analysis tools. **Nucleic Acids Res**, v. 31, n. 13, p. 3593-3596, 2003.
- VAN SLUYS, M.A.; DE OLIVEIRA, M.C.; MONTEIRO-VITORELLO, C.B.; MIYAKI, C.Y.; FURLAN, L.R.; CAMARGO, L.E.; DA SILVA, A.C.; MOON, D.H.; TAKITA, M.A.; LEMOS, E.G.; MACHADO, M.A.; FERRO, M.I.; DA SILVA, F.R.; GOLDMAN, M.H.; GOLDMAN, G.H.; LEMOS,

- M.V.; EL-DORRY, H.; TSAI, S.M.; CARRER, H.; CARRARO, D.M.; DE OLIVEIRA, R.C.; NUNES, L.R.; SIQUEIRA, W.J.; COUTINHO, L.L.; KIMURA, E.T.; FERRO, E.S.; HARAKAVA, R.; KURAMAE, E.E.; MARINO, C.L.; GIGLIOTI, E.; ABREU, I.L.; ALVES, L.M.; DO AMARAL, A.M.; BAIA, G.S.; BLANCO, S.R.; BRITO, M.S.; CANNAVAN, F.S.; CELESTINO, A.V.; DA CUNHA, A.F.; FENILLE, R.C.; FERRO, J.A.; FORMIGHIERI, E.F.; KISHI, L.T.; LEONI, S.G.; OLIVEIRA, A.R.; ROSA, V.E.; JR.; SASSAKI, F.T.; SENA, J.A.; DE SOUZA, A.A.; TRUFFI, D.; TSUKUMO, F.; YANAI, G.M.; ZAROS, L.G.; CIVEROLO, E.L.; SIMPSON, A.J.; ALMEIDA, N.F.; JR.; SETUBAL, J.C. ; KITAJIMA, J.P. Comparative analyses of the complete genome sequences of Pierce's disease and citrus variegated chlorosis strains of *Xylella fastidiosa*. **J Bacteriol**, v. 185, n. 3, p. 1018-1026, 2003.
- VELCULESCU, V.E.; ZHANG, L.; VOGELSTEIN, B.; KINZLER, K.W. Serial analysis of gene expression. **Science**, v. 270, n. 5235, p. 484-487, 1995.
- VENCIO, R.Z.; KOIDE, T. HTself: Self-Self Based Statistical Test for Low Replication Microarray Studies. **DNA Res**, v. 12, n. 3, p. 211-214, 2005.
- VENCIO, R.Z.; KOIDE, T.; GOMES, S.L.; PEREIRA, C.A. BayGO: Bayesian analysis of ontology term enrichment in microarray data. **BMC Bioinformatics**, v. 7, n. 1, p. 86, 2006.
- WEBER, A.; JUNG, K. Profiling early osmostress-dependent gene expression in *Escherichia coli* using DNA macroarrays. **J Bacteriol**, v. 184, n. 19, p. 5502-5507, 2002.
- WEINER, J.; 3RD ZIMMERMAN, C.U.; GOHLMANN, H.W.; HERRMANN, R. Transcription profiles of the bacterium *Mycoplasma pneumoniae* grown at different temperatures. **Nucleic Acids Res**, v. 31, n. 21, p. 6306-6320, 2003.
- WELLS, J.M.; RAJU, B.C.; HUNG, H.Y.; WEISBERG, W.G.; MANDELCO-PAUL, L.; BRENNER, D.J. *Xylella fastidiosa* new-genus new-species gram-negative xylem-limited fastidious plant bacteria related to *Xanthomonas* spp. **Int J Syst Bacteriol**, v. 37, p. 136-143, 1987.
- WENG, S.F.; TAI, P.M.; YANG, C.H.; WU, C.D.; TSAI, W.J.; LIN, J.W.; TSENG, Y.H. Characterization of stress-responsive genes, *hrcA-grpE-dnaK-dnaJ*, from phytopathogenic *Xanthomonas campestris*. **Arch Microbiol**, v. 176, p. 121-128, 2001.
- WINTER, J.; LINKE, K.; JATZEK, A.; JAKOB, U. Severe oxidative stress causes inactivation of DnaK and activation of the redox-regulated chaperone Hsp33. **Mol Cell**, v. 17, n. 3, p. 381-392, 2005.
- WORST, D.J.; GERRITS, M.M.; VANDENBROUCKE-GRAULS, C.M.; KUSTERS, J.G. *Helicobacter pylori* *ribBA*-mediated riboflavin production is involved in iron acquisition. **J Bacteriol**, v. 180, n. 6, p. 1473-1479, 1998.
- XIE, G.; BONNER, C.A.; BRETTIN, T.; GOTTARDO, R.; KEYHANI, N.O. ; JENSEN, R.A. Lateral gene transfer and ancient paralogy of operons containing redundant copies of tryptophan-pathway genes in *Xylella* species and in heterocystous cyanobacteria. **Genome Biol**, v. 4, n. 2, p. R14, 2003.
- XIE, Y.; CHOU, L.S.; CUTLER, A.; WEIMER, B. DNA Macroarray profiling of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IL1403 gene expression during environmental stresses. **Appl Environ Microbiol**, v. 70, n. 11, p. 6738-6747, 2004.
- YANG, I.V.; CHEN, E.; HASSEMAN, J.P.; LIANG, W.; FRANK, B.C.; WANG, S.; SHAROV, V.; SAEED, A. I.; WHITE, J.; LI, J.; LEE, N.H.; YEATMAN, T.J.; QUACKENBUSH, J. Within the fold: assessing differential expression measures and reproducibility in microarray assays. **Genome Biol**, v. 3, n. 11, p. 62, 2002.

- YANG, Y.H.; DUDOIT, S.; LUU, P.; LIN, D.M.; PENG, V.; NGAI, J.; SPEED, T.P. Normalization for cDNA microarray data: a robust composite method addressing single and multiple slide systematic variation. **Nucleic Acids Res**, v. 30, n. 4, p. e15, 2002.
- YEUNG, K.Y.; MEDVEDOVIC, M.; BUMGARNER, R.E. Clustering gene-expression data with repeated measurements. **Genome Biol**, v. 4, n. 5, p. R34, 2003.
- YUE, L.; REISDORF, W.C. Pathway and ontology analysis: emerging approaches connecting transcriptome data and clinical endpoints. **Curr Mol Med**, v. 5, n. 1, p. 11-21, 2005.
- YURA, T. ; NAKAHIGASHI, K. Regulation of the heat-shock response. **Curr Opin Microbiol**, v. 2, n. 2, p. 153-158, 1999.
- ZHAO, Y.; PAN, W. Modified nonparametric approaches to detecting differentially expressed genes in replicated microarray experiments. **Bioinformatics**, v. 19, n. 9, p. 1046-1054, 2003.

MATERIAL SUPLEMENTAR**Tabela S1:** Categorias funcionais dos genes de *X. fastidiosa* (Simpson *et al.*, 2000)

I. Metabolismo intermediário	II. Biossíntese de pequenas moléculas
I.A Degradação	II.A. Biossintes de aminoácidos
I.A.1 Degradação de polissacarídeos	II.A.1 Família do glutamato, assimilação de nitrogênio
I.A.2 Degradação de pequenas moléculas	II.A.2 Família do aspartato, piruvato
I.B Metabolismo intermediário central	II.A.3 Família da glicina-serina, metabolismo de enxofre
I.B.1 Amino açúcares	II.A.4 Família de aminoácidos aromáticos
I.B.2 Entner-Doudoroff	II.A.5 Histidina
I.B.3 Gliconeogênese	II.B Biossíntese de nucleotídeos
I.B.4 Via do Glioxilato	II.B.1 Ribonucleotídeos - purina
I.B.5 Miscelânea, metabolismo de glicose	II.B.2 Ribonucleotídeos - pirimidina
I.B.6 Via das pentose fosfato, não oxidativa	II.B.3 2'-Deoxiribonucleotídeos
I.B.7 Hidrólise de nucleotídeo	II.B.4 Economia de nucleosídeos e nucleotídeos
I.B.8 Interconversões de nucleotídeo	II.C Biossíntese de açúcares e sugar nucleotides
I.B.9 Fósforo	II.D Biossíntese de cofatores, grupos prostéticos e carregadores
I.B.10 Conversões multifuncionais	II.D.1 Biotina
I.B.11 Biossíntese de açúcares-nucleotídeos, conversões	II.D.2 Ácido fólico
I.B.12 Metabolismo de enxofre	II.D.3 Lipoato
I.C Metabolismo energético, carbono	II.D.4 Molibdopterina
I.C.1 Respiração aeróbica	II.D.5 Pantotenato
I.C.2 Respiração anaeróbica e fermentação	II.D.6 Piridoxina
I.C.3 Transporte de elétrons	II.D.7 Piridina
I.C.4 Glicólise	II.D.8 Tiamina
I.C.5 Via das pentose fosfato, oxidativa	II.D.9 Riboflavina
I.C.6 Piruvato desidrogenase	II.D.10 Tioredoxina, glutaredoxina, glutatona
I.C.7 Ciclo do TCA	II.D.11 Menaquinona, ubiquinona
I.C.8 Síntese de ATP	II.D.12 Heme, porfirina
I.D Funções regulatórias	II.D.13 BCCP- proteína carregadora de biotina
	II.D.14 Cobalamina
	II.D.15 Enteroquelina
	II.D.16 Biopterina
	II.D.17 Outros
	II.E Biossíntese de ácidos graxos e ácido fosfatídico
	II.F Biossíntese de poliaminas

III. Metabolismo de macromoléculas

- III.A Metabolismo de DNA
 - III.A.1 Replicação
 - III.A.2 Proteínas ligantes a DNA
 - III.A.3 Recombinação
 - III.A.4 Reparo
 - III.A.5 Restrição, modificação
- III.B Metabolismo de RNA
 - III.B.1 RNAs ribossômicos e RNAs estáveis
 - III.B.2 Proteínas ribossômicas
 - III.B.3 Ribossomos - maturação e modificação Aminoacil tRNA sintetases, modificação de tRNAs
 - III.B.4 Síntese de RNA, modificação, transcrição
 - III.B.5 Degradação de RNA
- III.C Metabolismo de proteínas
 - III.C.1 Tradução e modificação
 - III.C.2 Chaperones
 - III.C.3 Degradação de proteínas
- III.D Metabolismo de outras macromoléculas
 - III.D.1 Polissacarídeos
 - III.D.2 Fosfolipídeos

IV. Estrutura Celular

- IV.A Componentes de membrana
 - IV.A.1 Membrana interna
 - IV.A.2 Componentes de membrana externa
- IV.B Mureína, peptidoglicano
- IV.C Polissacarídeos de superfície, lipopolissacarídeos e antígenos
- IV.D Estruturas de Superfície

V. Processos celulares

- V.A Transporte
 - V.A.1 Aminoácidos, aminas
 - V.A.2 Ânions
 - V.A.3 Carboidrato, ácidos orgânicos, álcool
 - V.A.4 Cátions
 - V.A.5 Nucleosídeos, purinas, pirimidinas
 - V.A.6 Secreção de proteínas e peptídeos
 - V.A.7 Outros
- V.B Divisão celular
- V.C Quimiotaxia e mobilidade
- V.D Adaptação osmótica
- V.E Morte celular

VI. Elementos genéticos móveis

- VI.A Funções relacionadas a fagos e profagos
- VI.B Funções relacionadas a plasmídeos
- VI.C Funções relacionadas a transposons e introns

VII. Patogenicidade, virulência e adaptação

- VII.A Avirulência
- VII.B Resposta hipersensitiva e patogenicidade
- VII.C Produção de toxinas e detoxificação
- VII.D Degradação de parede celular do hospedeiro
- VII.E Exopolissacarídeos
- VII.F Proteínas de superfície
- VII.G Adaptação a condições atípicas
- VII.H Outros

VIII. Hipotéticas

- VIII.A Proteínas hipotéticas conservadas
- VIII.B Proteínas hipotéticas

IX ORFs com categoria indefinida

Tabela S2: Genes induzidos durante o choque térmico. Os genes estão ordenados de acordo com a categoria funcional definida por Simpson *et al.*, 2000. $M = \log$ da razão da intensidade de fluorescência no choque térmico em relação à condição controle. Os valores em negrito correspondem aos valores de M considerados induzidos.

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	$M = \log_2(40^\circ\text{C}/29^\circ\text{C})$			
					7min	15min	25min	45min
XF0878	predicted polysaccharide deacetylase		I.A.2	X	0.25	1.57	2.16	2.70
XF1472	benzene 1,2-dioxygenase, ferredoxin protein	<i>bedB</i>	I.A.2		0.25	1.91	1.40	1.82
XF2395	acetylxyylan esterase	<i>axeA</i>	I.A.2		0.46	0.93	1.88	1.50
XF2013	5-formyltetrahydrofolate cyclo-ligase		I.B	X	-0.13	-0.06	0.41	0.76
XF0880	carbonic anhydrase	<i>yadF</i>	I.B.10		-0.05	0.22	0.51	0.64
XF2171	inorganic pyrophosphatase	<i>ppa</i>	I.B.10		0.26	1.56	2.51	2.98
XF2255	acetyl coenzyme A synthetase	<i>acs</i>	I.B.10		0.16	0.58	1.23	1.63
XF0259	phosphomannose isomerase-GDP-mannose pyrophosphorylase	<i>xanB</i>	I.B.11		0.13	0.28	0.72	1.01
XF0848	glycosyl hydrolase, family 18		I.B.2	X	0.13	0.49	0.88	1.31
XF2015	ribose-5-phosphate isomerase A	<i>rpiA</i>	I.B.6		0.12	1.67	2.11	2.27
XF1747	nucleoside-diphosphate-sugar epimerases		I.C	X	-0.28	0.48	0.80	0.92
XF0254	electron transfer flavoprotein beta subunit	<i>etfB</i>	I.C.3		0.00	-0.02	0.39	1.00
XF0910	ubiquinol cytochrome C oxidoreductase, cytochrome C1 subunit	<i>petC</i>	I.C.3		0.10	0.44	0.83	0.79
XF1298	electron transfer flavoprotein ubiquinone oxidoreductase	<i>etfQO</i>	I.C.3		0.31	0.68	1.21	0.77
XF2459	c-type cytochrome biogenesis protein	<i>cycJ</i>	I.C.3		-0.17	0.61	0.78	1.10
XF1144	ATP synthase, gamma chain	<i>atpG</i>	I.C.8		-0.44	0.66	0.56	0.72
XF0352	pentaphosphate guanosine-3'-pyrophosphohydrolase	<i>spoT</i>	I.D		-0.08	1.22	1.45	1.26
XF0390	two-component system, sensor protein	<i>phoQ</i>	I.D		-0.11	0.33	0.58	0.74
XF1316	ATP:GTP 3'-pyrophosphotranferase	<i>relA</i>	I.D		0.44	0.52	0.81	1.28
XF1354	transcriptional regulator (MarR family)	<i>yybA</i>	I.D		0.09	0.23	0.41	0.68
XF1625	two-component system, sensor protein	<i>algZ</i>	I.D		-0.24	0.19	0.26	0.59
XF1721	putative transcriptional regulator (LysR family)		I.D	X	-0.15	1.11	1.62	1.36
XF1795	transcriptional regulator	<i>baf</i>	I.D	X	-0.05	-0.06	0.55	0.75
XF2062	transcriptional repressor	<i>korC</i>	I.D		-0.29	0.24	0.50	0.70
XF2071	predicted transcriptional regulator		I.D	X	-0.05	0.21	0.55	0.96
XF2240	negative regulator of sigma E activity	<i>rseA</i>	I.D	X	0.61	1.30	1.55	1.33
XF2336	two-component system, regulatory protein	<i>colR</i>	I.D		-0.10	0.92	1.80	2.03
XF2534	two-component system, regulatory protein	<i>colR</i>	I.D		0.27	0.89	1.12	1.13
XF2546	two-component system, sensor protein	<i>pilS</i>	I.D		0.19	1.02	1.69	1.63
XF2578	two-component system, regulatory protein	<i>actR</i>	I.D		0.07	0.43	0.60	0.64
XF2715	transcriptional regulator (TetR family)		I.D	X	0.75	1.41	0.83	0.41
XFa0046	predicted transcriptional regulator		I.D	X	0.67	0.71	0.67	-0.44
XF1000	acetylornithine deacetylase	<i>argE</i>	II.A.1		-0.03	-0.55	0.31	0.57
XF1003	argininosuccinate lyase	<i>asl</i>	II.A.1		0.03	-0.38	0.27	1.01
XF1004	glutamate 5-kinase	<i>dr1827</i>	II.A.1		0.08	-0.99	-0.01	1.21
XF2709	glutamate synthase, beta subunit	<i>gltd</i>	II.A.1		0.42	0.80	0.75	0.77
XF1473	aminotransferase	<i>nifS</i>	II.A.2		0.37	0.65	1.17	1.01
XF1374	N-(5'-phosphoribosyl) anthranilate isomerase	<i>trpF</i>	II.A.4		0.07	0.86	1.45	2.07
XF1375	tryptophan synthase beta chain	<i>trpB</i>	II.A.4		0.04	0.20	0.37	0.60
XF0560	GMP synthase	<i>scf55.27</i>	II.B.1		0.21	0.65	0.53	0.49
XF0580	thymidylate kinase	<i>ph1695</i>	II.B.3		0.07	1.01	0.88	1.11
XF2174	thioredoxin	<i>ybbN</i>	II.D.10		1.08	2.03	3.43	3.17
XF2648	glutamyl-tRNA reductase	<i>hemA</i>	II.D.12		0.08	0.55	0.48	0.51
XF0378	thiamin-phosphate pyrophosphorylase	<i>thiE</i>	II.D.8		-0.26	0.36	0.98	0.75
XF0950	riboflavin-specific deaminase	<i>ribD</i>	II.D.9		0.12	0.77	0.65	0.52
XF0882	ATP-dependent helicase	<i>yoaA</i>	III.A.1		-0.02	0.90	0.83	1.87
XF1383	helicase, ATP dependent	<i>hrpA</i>	III.A.1		0.83	1.35	2.18	1.69
XF2558	chromosome segregation protein	<i>smc</i>	III.A.2		-0.49	-0.02	0.65	0.94
XF0354	ATP-dependent DNA helicase	<i>recG</i>	III.A.3		-0.70	0.60	1.38	1.43
XF0295	type I restriction-modification system endonuclease	<i>mth940</i>	III.A.5		0.13	0.55	0.69	0.08
XF2739	type I restriction-modification system endonuclease		III.A.5		0.43	1.43	2.08	2.18
XFa0025	histone acetyltransferase		III.B	X	-0.35	0.46	0.79	1.09
XF1151	30S ribosomal protein S10	<i>rpsJ</i>	III.B.2		-0.07	-0.27	0.77	1.06
XF2580	30S ribosomal protein S2	<i>rpsB</i>	III.B.2		0.89	0.97	1.30	1.36
XF0741	phenylalanyl-tRNA synthetase alpha chain	<i>pheS</i>	III.B.4		0.25	0.03	0.82	0.74
XF1314	S-adenosylmethionine: tRNA ribosyltransferase-isomerase	<i>queA</i>	III.B.4		-0.05	0.14	0.40	0.88
XF1373	tRNA pseudouridine synthase A	<i>truA</i>	III.B.4		0.07	0.76	1.41	1.96
XF1257	oligoribonuclease	<i>orn</i>	III.B.6		0.18	0.58	1.68	1.90
XF0167	peptidase		III.C.1	X	0.07	0.50	0.58	1.11
XF0652	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	<i>slyD</i>	III.C.1		0.19	0.59	1.08	1.09

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	M = log ₂ (40°C/29°C)			
					7min	15min	25min	45min
XF1018	arginine-tRNA-protein transferase	<i>ate1</i>	III.C.1		0.22	0.82	1.13	1.31
XF1436	disulfide oxidoreductase	<i>dsbA</i>	III.C.1		0.14	0.23	0.47	0.58
XF2579	elongation factor Ts	<i>tsf</i>	III.C.1		0.60	0.91	0.82	0.63
XF0381	chaperone	<i>clpB</i>	III.C.2	X	1.07	2.30	3.85	3.79
XF0615	60kDa chaperonin	<i>groEL</i>	III.C.2		1.86	2.22	3.93	2.85
XF0616	10kDa chaperonin	<i>groES</i>	III.C.2		1.93	2.79	4.31	3.21
XF0978	heat shock protein G	<i>htpG</i>	III.C.2		1.03	1.51	2.06	1.94
XF2233	DnaJ protein	<i>dnaJ</i>	III.C.2		1.32	2.66	3.89	4.17
XF2339	DnaJ protein	<i>dnaJ</i>	III.C.2		0.66	1.29	2.80	2.11
XF2340	DnaK protein	<i>dnaK</i>	III.C.2		1.15	2.57	3.64	3.78
XF2341	heat shock protein GrpE	<i>grpE</i>	III.C.2		1.42	2.32	3.80	3.08
XF0093	protease	<i>ftsH</i>	III.C.3	X	-0.06	0.65	0.87	1.35
XF0862	peptidase		III.C.3	X	0.21	0.96	1.36	1.10
XF0881	peptidase		III.C.3	X	-0.23	0.97	1.48	1.88
XF1187	ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit	<i>clpP</i>	III.C.3		-0.01	0.41	0.64	0.54
XF1189	ATP-dependent serine proteinase La	<i>lon</i>	III.C.3		0.13	0.58	0.63	0.61
XF1443	ATP-dependent Clp protease subunit	<i>clpA</i>	III.C.3		0.69	1.47	2.23	1.87
XF1484	heat shock protein	<i>hslV</i>	III.C.3		0.91	1.97	3.24	2.75
XF1485	heat shock protein	<i>hslU</i>	III.C.3		0.56	1.31	2.25	2.04
XF2241	periplasmic protease	<i>mucD</i>	III.C.3		1.20	1.62	2.46	2.19
XF2594	peptidase		III.C.3	X	0.79	3.04	3.65	3.91
XF2170	phospholipid-binding protein (COG1881)		IV.A	X	0.24	0.80	2.10	2.80
XF0256	glucose-1-phosphate thymidyltransferase	<i>rfbA</i>	IV.A.1		0.24	0.49	0.37	0.80
XF0777	membrane protein	<i>actII-3</i>	IV.A.1		0.03	0.49	0.74	0.95
XF1126	predicted membrane protein		IV.A.1	X	0.49	0.56	0.79	1.07
XF1140	UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase	<i>glmU</i>	IV.A.1		0.08	0.98	0.94	0.65
XF1278	predicted membrane protein		IV.A.1	X	-0.08	1.15	1.68	1.82
XF1640	ankyrin-like protein	<i>ank2</i>	IV.A.1		0.31	0.53	0.49	0.19
XF2186	conserved rhomboid like protein		IV.A.1	X	0.35	0.52	1.21	0.95
XF2252	predicted membrane protein		IV.A.1	X	0.55	0.61	1.04	1.19
XF2257	predicted membrane protein	<i>yebN</i>	IV.A.1	X	-0.10	0.76	0.35	0.51
XF0384	outer membrane hemin receptor	<i>phuR</i>	IV.A.2		0.11	0.09	0.52	0.13
XF0847	beta-hexosaminidase precursor	<i>nahA</i>	IV.A.2		0.14	0.03	0.33	1.57
XF2184	membrane-bound lytic transglycosylase	<i>mltB</i>	IV.A.2		0.18	0.68	1.08	0.91
XF0759	N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase precursor	<i>amiC</i>	IV.B		0.58	0.66	1.10	0.97
XF2185	rare lipoprotein A	<i>rlpA</i>	IV.B		0.15	0.83	1.59	1.25
XF0879	lipopolysaccharide biosynthesis protein	<i>rfbU</i>	IV.C		-0.14	0.39	0.69	1.17
XF1415	UDP-N-acetylglucosamine 1-carboxyvinyltransferase	<i>murA</i>	IV.C		-0.04	0.32	0.62	0.83
XF2537	pre-pilin leader peptidase	<i>xpsO</i>	IV.D		0.23	0.35	0.55	0.54
XF2539	fimbrial protein		IV.D		0.39	0.81	1.60	0.54
XF0556	predicted GTPases (COG1162)	<i>engC</i>	IX	X	0.27	0.48	0.70	0.83
XF1021	acyl-CoA thioesterase II	<i>tesB</i>	IX	X	0.01	0.41	1.13	1.26
XF1668	HicB-related protein	<i>drb0141</i>	IX		0.18	1.23	1.50	0.80
XF1796	bifunctional transcriptional repressor of the biotin operon/biotin acetyl-CoA-carboxylase synthetase	<i>birA</i>	IX		-0.04	0.33	1.07	1.23
XF0140	predicted permease	<i>yjgQ</i>	V.A	X	-0.02	0.16	0.48	0.74
XF0976	C4-dicarboxylate transport protein	<i>dctA</i>	V.A.3		0.40	0.73	0.97	0.97
XF2267	glycerol uptake facilitator protein	<i>glpF</i>	V.A.3		0.17	0.50	0.86	0.22
XF0367	voltage-gated potassium channel beta subunit		V.A.4		0.24	0.53	1.15	1.06
XF0932	ferrous iron transport protein	<i>dr1220</i>	V.A.4		0.17	0.70	0.93	0.64
XF1426	ion transporter	<i>dr0830</i>	V.A.4		-0.26	0.61	0.51	0.51
XF2019	Na ⁺ :H ⁺ antiporter	<i>yjcE</i>	V.A.4		0.29	0.01	0.75	0.85
XF0304	protein-export membrane protein	<i>secG</i>	V.A.6		0.19	1.22	0.78	0.89
XF0806	preprotein translocase SecA subunit	<i>secA</i>	V.A.6		0.44	1.40	1.90	2.06
XF2261	oligopeptide transporter	<i>hl0561/560</i>	V.A.6		0.28	0.47	0.55	0.64
XF2456	heme ABC transporter membrane protein	<i>ccmB</i>	V.A.6		-0.02	0.53	0.93	1.32
XF2639	preprotein translocase subunit	<i>secE</i>	V.A.6		-0.12	0.03	0.63	0.41
XF1258	small conductance mechanosensitive ion channel	<i>yggB</i>	V.A.7		0.10	0.17	0.56	0.67
XF1474	ABC transporter membrane protein	<i>ynhC</i>	V.A.7		0.29	0.46	1.64	1.71
XF1475	ABC transporter ATP-binding protein	<i>ynhD</i>	V.A.7		0.11	0.35	1.00	0.67
XF2251	solute:Na ⁺ symporter	<i>ppa</i>	V.A.7		0.42	1.00	1.21	1.40
XF2582	ABC transporter ATP-binding protein	<i>dra0349</i>	V.A.7		-0.05	0.30	0.73	0.98
XF0483	phage-related protein		VI.A	X	0.08	0.14	0.45	0.54
XF0540	phage-related lysozyme		VI.A	X	0.15	0.53	0.64	0.27
XF0678	phage-related integrase	<i>int</i>	VI.A		-0.30	0.37	0.44	0.79

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	M = log ₂ (40°C/29°C)			
					7min	15min	25min	45min
XF0684	phage-related protein		VI.A		0.90	1.21	1.28	1.45
XF0685	phage-related protein		VI.A		0.57	0.84	1.31	0.86
XF0686	phage-related protein		VI.A		0.83	0.52	1.62	0.22
XF0704	phage-related protein		VI.A		0.07	0.54	1.50	0.92
XF1598	phage related protein		VI.A	X	0.91	1.22	1.74	2.69
XF1645	phage-related protein		VI.A		-0.03	0.57	1.65	1.74
XF1647	phage-related protein		VI.A	X	0.66	0.39	0.02	-0.20
XF1663	phage-related protein		VI.A		0.98	1.03	1.18	0.72
XF1703	phage-related protein		VI.A	X	0.67	0.67	0.53	0.32
XF1864	phage-related protein		VI.A		0.88	0.19	0.62	1.89
XF2129	prophage antirepressor		VI.A	X	0.40	0.54	1.15	1.22
XF2314	phage-related lysozyme	<i>lycV</i>	VI.A		0.02	0.28	0.56	0.68
XF2522	phage-related protein		VI.A		0.76	1.35	1.69	1.31
XF2523	phage-related protein		VI.A		0.37	0.53	1.42	0.80
XF2525	phage-related DNA polymerase	<i>dpoL</i>	VI.A		0.43	0.85	2.21	0.44
XF2761	phage-related integrase		VI.A	X	0.03	0.27	0.71	0.83
XF2031	plasmid stabilization protein	<i>parD</i>	VI.B		0.41	0.72	1.09	0.93
XF2048	conjugal transfer protein	<i>trbJ</i>	VI.B		0.61	0.64	-0.28	-0.18
XF2066	plasmid stabilization system protein	<i>yacB</i>	VI.B	X	0.48	1.45	1.19	1.42
XF2068	putative stability determinant		VI.B	X	0.35	0.79	1.02	1.34
XFa0037	conjugal transfer protein	<i>trbL</i>	VI.B		0.44	0.85	0.58	0.59
XFa0047	nickase	<i>taxC</i>	VI.B		1.60	1.97	2.03	2.12
XFa0048	putative mobilisation protein	<i>mobC</i>	VI.B	X	2.21	2.79	3.38	2.93
XFa0050	stability partitioning determinant	<i>stbB</i>	VI.B	X	1.64	1.71	1.43	1.64
XF0165	beta-lactamase induction signal transducer protein	<i>ampG</i>	VII.C		0.35	0.58	0.63	0.83
XF0598	prolyl 4-hydroxylase (P4Hc) alpha subunit		VII.C	X	0.29	0.22	0.63	0.36
XF0668	hemolysin-type calcium binding protein	<i>frpC</i>	VII.C		0.76	0.98	0.33	0.58
XF1531	subunit F of alkyl hydroperoxide reductase	<i>ahpF</i>	VII.C		0.31	0.67	0.40	0.18
XF1841	undecaprenol kinase	<i>bacA</i>	VII.C		-0.13	1.33	1.60	1.85
XF2397	toxin secretion ABC transporter ATP-binding protein	<i>hlyB</i>	VII.C		0.16	0.51	0.75	0.81
XF2398	hemolysin secretion protein D	<i>hlyD</i>	VII.C		0.10	0.25	0.92	0.96
XF2407	bacteriocin		VII.C		0.68	0.97	0.63	0.30
XF2666	multiple antibiotic transporter	<i>yhgN</i>	VII.C	X	0.14	0.63	0.65	0.30
XF1516	surface-exposed outer membrane protein	<i>uspA1</i>	VII.F		0.42	0.48	0.81	0.99
XF2196	hemagglutinin-like secreted protein	<i>pspA</i>	VII.F		0.43	0.44	1.30	2.19
XF2775	hemagglutinin-like secreted protein	<i>pspA</i>	VII.F		0.10	0.70	0.98	1.20
XF0285	heat shock protein	<i>htrA</i>	VII.G		0.52	0.86	1.15	1.18
XF0432	BrkB protein	<i>brk</i>	VII.G		-0.03	0.32	0.45	0.59
XF0785	sulfur deprivation response regulator	<i>sac1</i>	VII.G		0.32	0.48	0.85	0.88
XF0959	predicted ATPase related to phosphate starvation inducible protein		VII.G	X	0.03	0.40	1.63	1.47
XF1714	heat shock protein HSP33	<i>hslO</i>	VII.G	X	0.19	0.41	0.56	0.64
XF2234	low molecular weight heat shock protein	<i>hspA</i>	VII.G		1.33	3.35	3.44	2.98
XF2625	heat shock protein	<i>htpX</i>	VII.G		1.48	2.39	3.83	3.64
XF1020	pathogenicity-related protein		VII.H		0.25	0.43	0.66	0.52
XF1517	general secretory pathway protein E	<i>xpsE</i>	VII.H		0.45	0.93	1.47	1.53
XF1518	general secretory pathway protein F	<i>xpsF</i>	VII.H		0.20	0.81	1.51	1.93
XF1520	general secretory pathway protein H precursor	<i>xpsF</i>	VII.H		0.11	0.33	0.51	0.60
XF1522	general secretory pathway protein J precursor	<i>xpsJ</i>	VII.H		-0.01	0.24	0.68	1.22
XF1588	putative virulence-associated protein		VII.H	X	0.23	1.11	0.84	1.02
XFa0052	virulence-associated protein D	<i>vapD</i>	VII.H		1.36	0.93	0.90	1.35
XF0328	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.07	0.46	0.65	0.66
XF0338	conserved hypothetical protein	<i>hI0033</i>	VIII.A		-0.33	0.40	0.35	0.61
XF0383	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.26	0.38	0.44	0.87
XF0517	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.00	-0.09	0.61	0.48
XF0525	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.02	0.25	0.56	0.46
XF0583	conserved hypothetical protein		VIII.A		-0.21	0.03	0.97	1.55
XF0623	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.61	0.41	1.11	0.82
XF0688	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.87	0.89	1.28	0.77
XF0717	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.39	0.81	1.52	1.00
XF0718	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.66	0.91	2.04	1.56
XF1006	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.59	1.11	1.58	1.73
XF1008	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.93	1.29	1.30	1.43
XF1010	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.66	1.32	1.51	1.70
XF1056	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.08	0.50	1.79	2.03

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	M = log ₂ (40°C/29°C)			
					7min	15min	25min	45min
XF1318	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.03	0.64	0.78	0.88
XF1384	conserved hypothetical protein	<i>pqaA</i>	VIII.A		0.35	0.42	0.89	0.16
XF1459	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.68	0.13	0.47	1.47
XF1461	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.14	0.89	0.76	1.15
XF1486	conserved hypothetical protein	<i>sc4G6.34</i>	VIII.A		0.09	0.57	2.14	2.03
XF1654	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.31	1.20	1.12	1.37
XF1659	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.25	0.86	0.96	1.46
XF1686	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.30	0.70	0.00	0.00
XF1712	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.12	1.40	1.94	2.17
XF2014	conserved hypothetical protein	<i>dr0566</i>	VIII.A		-0.11	0.44	0.97	1.91
XF2190	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.49	0.47	0.91	0.77
XF2195	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.36	0.30	0.52	0.61
XF2494	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.38	1.50	2.12	1.97
XF2495	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.24	1.19	1.67	1.92
XF2510	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.18	0.93	1.52	2.07
XF2514	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.76	2.01	2.59	2.57
XF2515	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.17	0.93	2.44	0.79
XF2517	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.27	0.52	0.80	1.02
XF2624	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.19	1.23	1.37	1.60
XF2651	conserved hypothetical protein	<i>ycbY</i>	VIII.A		0.24	0.46	0.73	0.62
XFa0023	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.04	0.64	1.34	1.82
XFa0024	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.13	0.90	1.42	2.03
XFa0064	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.51	0.94	0.70	0.86
XF0038	hypothetical protein		VIII.B		0.62	1.10	1.86	0.96
XF0168	hypothetical protein		VIII.B		0.27	1.91	0.85	0.63
XF0542	hypothetical protein		VIII.B		0.03	1.17	0.63	-0.17
XF0558	hypothetical protein		VIII.B		0.25	0.58	1.12	1.05
XF0578	hypothetical protein		VIII.B		0.39	1.08	2.08	1.89
XF0579	hypothetical protein		VIII.B		0.43	1.27	1.95	1.75
XF0626	hypothetical protein		VIII.B		-0.23	0.18	0.07	0.68
XF0667	hypothetical protein		VIII.B		0.95	0.59	-0.34	-0.50
XF0692	hypothetical protein		VIII.B		0.17	1.12	1.84	2.01
XF0807	hypothetical protein		VIII.B		0.10	1.04	1.81	1.59
XF0808	hypothetical protein		VIII.B		0.00	1.24	1.22	0.90
XF1034	hypothetical protein		VIII.B		0.06	0.10	0.48	0.63
XF1184	hypothetical protein		VIII.B		0.29	0.75	0.74	0.34
XF1693	hypothetical protein		VIII.B		0.56	1.27	2.40	2.31
XF1694	hypothetical protein		VIII.B		0.78	1.74	3.04	2.99
XF1707	hypothetical protein		VIII.B		0.60	0.50	0.13	0.39
XF1777	hypothetical protein		VIII.B		0.04	0.14	0.45	0.62
XF1867	hypothetical protein		VIII.B		0.15	0.56	0.72	1.01
XF2016	hypothetical protein		VIII.B		0.32	1.09	2.16	1.65
XF2064	hypothetical protein		VIII.B		0.01	0.68	0.97	1.19
XF2065	hypothetical protein		VIII.B		0.13	1.27	1.51	1.25
XF2067	hypothetical protein		VIII.B		0.36	0.79	1.20	1.32
XF2166	hypothetical protein		VIII.B		-0.06	0.92	1.73	1.30
XF2173	hypothetical protein		VIII.B		0.41	1.30	2.28	2.03
XF2181	hypothetical protein		VIII.B		-0.12	0.55	0.94	0.67
XF2231	hypothetical protein		VIII.B		0.38	0.61	1.37	1.39
XF2256	hypothetical protein		VIII.B		0.26	0.66	1.00	0.91
XF2318	hypothetical protein		VIII.B		0.19	0.29	0.38	0.71
XF2337	hypothetical protein		VIII.B		0.04	1.42	1.79	2.20
XF2377	hypothetical protein		VIII.B		0.20	0.70	0.80	1.68
XF2581	hypothetical protein		VIII.B		0.19	1.10	0.65	-0.17
XF2769	hypothetical protein		VIII.B		0.25	0.52	1.34	1.39
XF2771	hypothetical protein		VIII.B		0.01	0.07	0.24	0.75
XF2777	hypothetical protein		VIII.B		0.02	0.18	0.88	0.69
XFa0020	hypothetical protein		VIII.B		0.21	1.07	0.91	0.63
XFa0021	hypothetical protein		VIII.B		0.42	0.58	1.43	0.99
XFa0028	hypothetical protein		VIII.B		0.23	0.67	1.18	0.79
XFa0030	hypothetical protein		VIII.B		-0.40	0.80	0.73	1.47
XFa0049	hypothetical protein		VIII.B		1.52	2.25	1.55	2.09
XFa0051	hypothetical protein		VIII.B		1.20	1.25	0.91	1.34
XFa0063	hypothetical protein		VIII.B		0.09	0.45	0.91	0.94
XFb0002	hypothetical protein		VIII.B		-0.18	0.64	0.53	0.11

Tabela S3: Genes reprimidos durante o choque térmico. Os genes estão organizados de acordo com a categoria funcional definida por Simpson *et al*, 2000. M = log da razão da intensidade de fluorescência no choque térmico em relação à condição controle. Os valores em negrito correspondem aos valores de M considerados reprimidos.

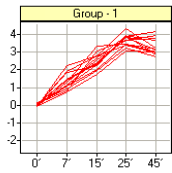
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	M = log ₂ (40°C/29°C)			
					7min	15min	25min	45min
XF0366	ribokinase	<i>rbsK</i>	I.A.2		-0.05	-0.65	-0.65	0.08
XF0610	UDP-glucose 4-epimerase	<i>galE</i>	I.A.2		-0.13	-0.37	-0.92	-1.03
XF0609	GDP-mannose 4,6 dehydratase	<i>gmD</i>	I.B.11		-0.05	-0.14	-0.82	-1.22
XF0994	SufE protein probably involved in Fe-S center assembly		I.B.12	x	-0.06	-0.57	-0.87	-1.10
XF2283	Zn-dependent hydrolases		I.B.4	x	-0.07	-0.44	-0.95	-1.21
XF1936	transketolase 1	<i>tktA</i>	I.B.6		-0.30	-1.01	-1.44	-1.47
XF2088	predicted mannose-6-phosphate isomerase		I.C	x	0.09	0.06	-0.28	-0.87
XF0305	NADH-ubiquinone oxidoreductase, NQO7 subunit	<i>nuoA</i>	I.C.1		-0.19	-0.42	-0.15	-0.81
XF0308	NADH-ubiquinone oxidoreductase, NQO4 subunit	<i>nuoD</i>	I.C.1		0.04	-0.23	-0.54	-0.81
XF0312	NADH-ubiquinone oxidoreductase, NQO8 subunit	<i>nuoH</i>	I.C.1		0.03	0.00	-0.13	-0.84
XF0316	NADH-ubiquinone oxidoreductase, NQO12 subunit	<i>nuoL</i>	I.C.1		0.07	-0.01	-0.56	-0.75
XF0347	D-lactate dehydrogenase	<i>dld1</i>	I.C.1		-0.64	-0.46	-0.75	-0.42
XF0115	arsenate reductase		I.C.3	x	-0.33	-0.22	-0.76	-0.58
XF1387	cytochrome O ubiquinol oxidase, subunit IV	<i>cyoD</i>	I.C.3		-0.11	-0.54	-1.22	-1.03
XF1388	cytochrome O ubiquinol oxidase, subunit III	<i>cyoC</i>	I.C.3		0.18	-0.64	-1.08	-1.24
XF1389	cytochrome O ubiquinol oxidase, subunit I	<i>cyoB</i>	I.C.3		-0.35	-0.73	-1.20	-1.09
XF0274	6-phosphofructokinase	<i>pfkA</i>	I.C.4		0.09	-1.04	-0.91	-0.87
XF0457	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	<i>gapA</i>	I.C.4		-0.06	-0.65	-0.87	-0.64
XF1549	dihydrolipoamide S-succinyltransferase	<i>sucB</i>	I.C.7		-0.29	-0.43	-0.95	-1.28
XF2547	succinyl-CoA synthetase, beta subunit	<i>sucC</i>	I.C.7		-0.12	-1.03	-1.70	-1.52
XF2548	succinyl-CoA synthetase, alpha subunit	<i>sucD</i>	I.C.7		-0.18	-0.67	-1.26	-1.18
XF1146	ATP synthase, delta chain	<i>atpH</i>	I.C.8		0.04	-1.20	-1.18	-1.10
XF1147	ATP synthase, B chain	<i>atpF</i>	I.C.8		-0.09	-1.12	-1.03	-0.64
XF1148	ATP synthase, C chain	<i>atpE</i>	I.C.8		-0.40	-0.96	-1.37	-1.31
XF0240	predicted transcriptional regulator		I.D	x	-0.11	-0.36	-0.88	-0.93
XF0401	two-component system, regulatory protein		I.D	x	-0.30	-0.44	-0.49	-0.83
XF0450	two-component system, regulatory protein	<i>pilH</i>	I.D		-0.11	-0.43	-1.07	-0.65
XF0821	transcriptional regulator (Fur family)	<i>zur</i>	I.D		0.01	-0.57	-1.19	-1.11
XF1275	poly(hydroxyalcanoate) granule associated protein	<i>phaF</i>	I.D		-0.17	-0.05	-0.87	-0.85
XF1408	RNA polymerase sigma-54 factor	<i>rpoN</i>	I.D		-0.15	-0.76	-0.96	-0.95
XF1540	transcriptional regulator (Crp/Fnr family)	<i>clp</i>	I.D		-0.09	-0.21	-0.40	-0.73
XF1813	methanol dehydrogenase regulatory protein	<i>dr0621</i>	I.D		-0.06	-0.88	-0.79	-0.58
XF1849	two-component system, sensor protein	<i>ntrB</i>	I.D		-0.19	-0.14	-0.26	-0.46
XF1996	transcriptional regulator (PbsX family)		I.D		0.22	-0.52	-0.75	-0.65
XF2545	two-component system, regulatory protein	<i>pilR</i>	I.D		-0.09	-0.26	-0.55	-0.77
XF0099	dihydroxy-acid dehydratase	<i>ilvD</i>	II.A.2		-0.22	-0.81	-0.98	-1.01
XF0114	2,3,4,5-tetrahydropteridine-2-carboxylate N-succinyltransferase	<i>clapD</i>	II.A.2		-0.06	-0.35	-0.58	-0.68
XF1999	branched-chain amino acid aminotransferase	<i>ilvE</i>	II.A.2		-0.17	-0.66	-0.58	-0.53
XF2224	homoserine kinase	<i>thrB</i>	II.A.2		0.26	-0.93	-0.25	0.61
XF0946	serine hydroxymethyltransferase	<i>glyA</i>	II.A.3		0.22	0.10	-0.55	-0.58
XF0211	anthranilate synthase component II	<i>trpG</i>	II.A.4		0.30	-0.38	-0.51	-0.52
XF0212	anthranilate phosphoribosyltransferase	<i>trpD</i>	II.A.4		-0.03	-0.23	-0.43	-0.60
XF0213	indole-3-glycerol phosphate synthase	<i>trpC</i>	II.A.4		-0.21	-0.26	-0.70	-1.23
XF0587	5'-phosphoribosyl-5-aminoimidazole synthetase	<i>purM</i>	II.B.1		-0.17	-0.81	-0.64	-0.70
XF0988	dihydroorotase	<i>pyrC</i>	II.B.2		-0.13	-0.49	-0.85	-0.44
XF1956	glutathione synthetase	<i>gshB</i>	II.D.10		0.12	-0.26	-0.62	-0.53
XF0566	ferrochelatase	<i>hemH</i>	II.D.12		-0.34	-0.45	-0.63	-1.17
XF1797	porphyrin biosynthesis protein	<i>hemY</i>	II.D.12		-0.64	-0.25	-0.90	-1.26
XF0228	2-amino-4-hydroxy-6-hydroxymethyldihydropteridine pyrophosphokinase	<i>folK</i>	II.D.2		-0.15	0.00	-0.26	-0.68
XF1456	2-amino-4-hydroxy-6-hydroxymethyldihydropteridine pyrophosphokinase	<i>folK</i>	II.D.2		-0.33	-0.16	-0.47	-0.73
XF0839	pyridoxal phosphate biosynthetic protein	<i>pdxA</i>	II.D.6		-0.50	-0.42	-0.79	-0.87
XF1923	quinolinate synthetase A	<i>nadA</i>	II.D.7		-0.27	-0.60	-0.95	-0.71
XF1924	L-aspartate oxidase	<i>sce94.33</i>	II.D.7		-0.01	-0.59	-0.68	-0.67
XF0954	6,7-dimethyl-8-ribityllumazine synthase	<i>ribH</i>	II.D.9		-0.12	-0.28	-0.38	-0.67
XF0319	acetoacetyl-CoA reductase	<i>phbB</i>	II.E		-0.02	-0.86	-1.34	-1.82
XF0670	malonyl CoA-ACP transacylase	<i>fabD</i>	II.E		-0.10	-0.36	-0.63	-0.79
XF0672	acyl carrier protein	<i>acpP</i>	II.E		0.10	-0.17	-0.25	-0.61
XF1044	(3r)-hydroxymyristoyl ACP dehydrase	<i>fabZ</i>	II.E		0.06	-0.67	-0.69	-0.07
XF0676	DNA polymerase III, delta subunit	<i>holB</i>	III.A.1		-0.19	-0.24	-0.46	-0.68
XF0920	DNA topoisomerase I	<i>topA</i>	III.A.1		-0.12	-0.92	-1.07	-0.73
XF0660	exodeoxyribonuclease small subunit	<i>xseB</i>	III.A.4		-0.10	-0.86	-0.97	-1.03
XF1902	holliday junction binding protein, DNA helicase	<i>ruvB</i>	III.A.4		0.00	-0.22	-0.55	-1.04
XF1904	holliday junction binding protein, DNA helicase	<i>ruvA</i>	III.A.4		-0.87	-0.22	-1.08	-1.55

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	M = log ₂ (40°C/29°C)			
					7min	15min	25min	45min
XF1905	holliday junction resolvase, endodeoxyribonuclease	<i>ruvC</i>	III.A.4		-0.46	-0.59	-0.82	-0.69
XF0296	type I restriction-modification system specificity determinant		III.A.5		-0.37	-0.36	-0.61	-0.50
XF1442	ATP-dependent Clp protease adaptor protein ClpS	<i>clpS</i>	III.B	x	-0.15	-0.52	-0.57	-0.82
XF1157	50S ribosomal protein L22	<i>rpIV</i>	III.B.2		0.52	-0.72	0.10	-0.56
XF1159	50S ribosomal protein L16	<i>rpIP</i>	III.B.2		-0.19	-0.02	-0.22	-0.55
XF1161	30S ribosomal protein S17	<i>rpsQ</i>	III.B.2		0.05	-0.35	-0.34	-1.02
XF1162	50S ribosomal protein L14	<i>rpIN</i>	III.B.2		-0.01	-0.16	-0.52	-1.32
XF1163	50S ribosomal protein L24	<i>rpIX</i>	III.B.2		0.13	-0.15	-0.30	-0.69
XF1169	30S ribosomal protein S5	<i>rpsE</i>	III.B.2		0.30	-0.52	-0.98	-1.14
XF1171	50S ribosomal protein L15	<i>rpIO</i>	III.B.2		0.30	-0.16	-0.73	-0.97
XF1175	30S ribosomal protein S4	<i>rpsD</i>	III.B.2		-0.02	-0.64	-0.80	-1.01
XF2635	50S ribosomal protein L10	<i>rpIJ</i>	III.B.2		-0.07	-0.39	-0.61	-0.82
XF0169	tyrosyl-tRNA synthetase	<i>tyrS</i>	III.B.4		-0.37	-0.59	-0.84	-0.74
XF0445	prolyl-tRNA synthetase	<i>proS</i>	III.B.4		-0.09	-0.21	-0.69	-1.00
XF0736	threonyl-tRNA synthetase	<i>thrS</i>	III.B.4		0.02	-0.12	-0.48	-0.56
XF2222	histidyl-tRNA synthetase	<i>hisS</i>	III.B.4		0.35	-1.09	-0.59	-0.57
XF0192	ATP-dependent RNA helicase	<i>rhlE</i>	III.B.5		-0.38	-0.46	-0.64	-0.69
XF0955	transcription termination factor	<i>nusB</i>	III.B.5		-0.13	-0.17	-0.40	-0.84
XF1176	RNA polymerase alpha subunit	<i>rpoA</i>	III.B.5		0.01	-0.45	-0.51	-0.77
XF2246	ribonuclease III	<i>mc</i>	III.B.6		-0.10	-0.99	-0.99	-0.84
XF0184	membrane protein implicated in regulation of membrane protease activity	<i>dr2142</i>	III.C	x	0.17	-1.07	-0.50	-0.88
XF1191	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	<i>ppiD</i>	III.C.1		-0.19	-0.79	-0.49	-0.49
XF1605	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	<i>tp0862</i>	III.C.1		-0.19	-0.44	-0.72	-0.63
XF1026	serine protease	<i>pspB</i>	III.C.3		0.12	-0.10	-0.86	-0.64
XF1944	peptidyl-dipeptidase	<i>dcp</i>	III.C.3		0.04	-0.31	-0.71	-0.67
XF1183	polysaccharide biosynthetic protein	<i>vipA</i>	IV.A.1		-0.11	-0.41	-0.39	-0.90
XF2277	predicted membrane protein		IV.A.1	x	-0.24	-0.43	-0.66	-0.59
XF0363	OmpA family protein	<i>yiaD</i>	IV.A.2	x	-0.05	-0.14	-0.63	-1.03
XF0601	outer membrane protein UptE precursor		IV.A.2	x	0.03	-0.06	-0.60	-0.55
XF0653	putative lipoprotein		IV.A.2	x	-0.08	-0.31	-0.46	-0.46
XF0872	outer membrane protein	<i>ompW</i>	IV.A.2		0.14	-1.04	-0.63	-1.21
XF0938	putative lipoprotein (competence related)		IV.A.2	x	-0.07	-0.88	-1.14	-1.11
XF0975	polyphosphate-selective porin O	<i>oprO</i>	IV.A.2		0.19	-0.72	-0.68	-0.50
XF1814	glycosyl transferase		IV.A.2	x	-0.25	-0.38	-0.44	-0.48
XF1896	outer membrane protein P6 precursor	<i>pal</i>	IV.B		-0.13	-0.63	-0.89	-1.45
XF0611	dTDP-glucose 4-6-dehydratase	<i>rfbB</i>	IV.C		-0.15	-0.62	-1.34	-1.56
XF2588	UDP-2,3-diacetylglucosamine hydrolase	<i>ybbF</i>	IV.C	x	-0.73	-0.40	-0.88	-1.26
XF0031	PilX protein	<i>pilX</i>	IV.D		-0.47	-0.84	-0.36	-0.47
XF0083	fimbrial subunit precursor	<i>f17A-A</i>	IV.D		0.28	-1.14	-0.87	-1.50
XF0371	fimbrial assembly membrane protein	<i>pilO</i>	IV.D		-0.52	-0.79	-0.96	-1.77
XF0372	fimbrial assembly protein	<i>pilP</i>	IV.D		-0.26	-0.50	-0.94	-1.15
XF0373	fimbrial assembly protein	<i>pilQ</i>	IV.D		-0.32	-0.38	-1.08	-0.87
XF1632	twitching motility protein	<i>pilU</i>	IV.D		0.24	0.01	-0.81	-0.86
XF2542	fimbrial protein		IV.D		-0.33	-0.82	-2.22	-2.36
XF0102	glycosyl transferase	<i>rfaG</i>	IX	x	0.26	-0.78	-1.54	-0.63
XF1085	phosphohistidine phosphatase SixA	<i>sixA</i>	IX	x	-0.11	-0.08	-0.38	-0.60
XF1213	GTP-binding elongation factor protein	<i>typA</i>	IX		-0.01	-0.50	-0.36	-0.58
XF1323	predicted acetyltransferase, GNAT superfamily		IX	x	-0.37	-0.48	-0.61	-0.47
XF1828	ATPase	<i>spbc115</i>	IX		-0.66	-1.19	-1.42	-1.93
XF1894	radical activating enzyme		IX	x	-0.39	-0.47	-1.06	-1.09
XF2243	GTP binding protein	<i>lepA</i>	IX		-0.11	-0.35	-0.37	-0.51
XF1300	ABC-type uncharacterized transport system, auxiliary component		V	x	-0.05	-1.12	-0.73	-0.29
XF0214	phosphoserine phosphatase		V.A.1	x	-0.46	-0.31	-0.74	-0.94
XF2207	cationic amino acid transporter	<i>sc1c3.02</i>	V.A.1		0.35	-0.09	-0.19	-0.71
XF2143	ABC transporter phosphate permease	<i>pstA</i>	V.A.2		-0.04	-1.04	-0.81	0.06
XF0320	Mg ⁺⁺ /citrate complex transporter	<i>citN</i>	V.A.3		-0.11	-0.51	-0.66	-0.78
XF0324	periplasmic iron-binding protein	<i>afuA</i>	V.A.4		-0.14	-0.62	-0.63	-0.45
XF0395	bacterioferritin	<i>bfr</i>	V.A.4		-0.30	-0.85	-1.13	-1.56
XF2713	tonB-dependent receptor cirA		V.A.4	x	-0.08	-0.71	-0.89	-0.49
XF0224	preprotein translocase YajC subunit	<i>yajC</i>	V.A.6		-0.23	-0.47	-0.39	-1.00
XF0406	export protein	<i>ygjT</i>	V.A.7		-0.50	-0.32	-0.57	-0.50
XF0550	TonB-dependent receptor protein		V.A.7	x	0.40	-0.15	-0.55	-0.46
XF1223	ABC transporter ATP-binding protein	<i>yadG</i>	V.A.7		-0.37	0.10	-0.61	-0.61
XF1409	ABC transporter ATP-binding protein		V.A.7		-0.01	-0.66	-0.76	-0.47
XF2568	ABC transporter ATP-binding protein	<i>rfbE</i>	V.A.7		-0.20	-1.11	-1.42	-1.26
XF1321	septum site-determining protein	<i>minD</i>	V.B		0.02	-0.27	-0.84	-0.79
XF1910	cell division protein	<i>ftsY</i>	V.B		-0.32	-1.18	-0.27	0.67
XF2282	chromosome partitioning protein	<i>parA</i>	V.B		-0.38	-0.55	-0.88	-0.98

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	M = log ₂ (40°C/29°C)			
					7min	15min	25min	45min
XF1950	CheW like protein		V.C	X	-0.26	-0.12	-0.80	-0.89
XF2511	phage-related protein	<i>ci</i>	VI.A		0.06	-0.24	-0.63	-0.90
XF2526	phage-related protein		VI.A		-0.09	-0.37	-0.51	-0.48
XF1590	plasmid stabilization protein	<i>y4jJ</i>	VI.B		0.05	-0.25	0.01	-0.53
XF2050	conjugal transfer protein	<i>trbH</i>	VI.B		-0.04	0.09	-0.11	-0.42
XF2444	pheromone shutdown protein	<i>traB</i>	VI.B		-0.38	-1.02	-0.65	-0.65
XFa0005	conjugal transfer protein	<i>trbC</i>	VI.B		0.10	-0.39	-1.26	-1.02
XFa0008	conjugal transfer protein	<i>traC</i>	VI.B		0.04	0.07	-0.65	-1.03
XFa0036	conjugal transfer protein	<i>trbN</i>	VI.B		-0.61	-0.17	-0.46	-0.04
XFa0042	conjugal transfer protein	<i>trbG</i>	VI.B		0.23	-0.21	-0.67	-1.59
XFa0043	conjugal transfer protein	<i>trbF</i>	VI.B		-0.21	-0.21	-0.75	-0.92
XFa0059	plasmid replication/partition protein	<i>spoOJ</i>	VI.B		-0.10	0.09	-0.66	-0.55
XFa0060	plasmid replication protein	<i>incC</i>	VI.B		-0.65	0.33	-1.53	-1.75
XF0009	TonB protein	<i>tonB</i>	VII.C		-0.04	-0.52	-0.62	-0.67
XF0010	biopolymer transport ExbB protein	<i>exbB</i>	VII.C		0.02	-0.12	-0.69	-0.83
XF0262	colicin V precursor	<i>cvaC</i>	VII.C		-0.51	0.08	-0.85	-1.13
XF0263	colicin V precursor	<i>cvaC</i>	VII.C		-0.73	-0.82	-0.97	-1.43
XF0264	colicin V precursor		VII.C	x	-0.47	0.05	-0.68	-1.15
XF1216	colicin V secretion protein	<i>cvaA</i>	VII.C		-0.31	-1.44	-1.60	-1.46
XF1827	organic hydroperoxide resistance protein	<i>ohr</i>	VII.C		0.02	-0.27	-0.81	-1.00
XF1890	glutathione peroxidase-like protein	<i>gpo</i>	VII.C		0.01	-0.25	-0.81	-0.72
XF1897	TolB protein precursor	<i>topB</i>	VII.C		-0.27	-0.97	-0.96	-0.80
XF1898	TolA protein	<i>tolA</i>	VII.C		-0.22	-0.31	-0.46	-0.55
XF1900	TolQ protein	<i>tolQ</i>	VII.C		-0.37	-0.43	-0.79	-1.31
XF0418	toluene tolerance protein	<i>ttg2D</i>	VII.G		0.03	-1.19	-1.46	-0.45
XF0837	organic solvent tolerance precursor	<i>imp</i>	VII.G		-0.09	-0.71	-0.84	-0.23
XF2682	periplasmic glucan biosynthesis protein	<i>mdoG</i>	VII.G		-0.19	-0.15	-0.59	-0.79
XF0066	conserved hypothetical protein	<i>yIbK</i>	VIII.A		0.07	-0.46	-0.59	1.14
XF0196	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.09	-0.68	-0.89	-0.86
XF0382	conserved hypothetical protein		VIII.A	x	-0.04	-1.13	-0.68	-0.99
XF0403	conserved hypothetical protein		VIII.A	x	-0.28	-0.73	-1.30	-0.94
XF0404	conserved hypothetical protein		VIII.A		-0.22	-0.13	-0.70	-0.95
XF0407	conserved hypothetical protein	<i>yccW</i>	VIII.A		-0.12	-0.10	-0.19	-0.72
XF0497	conserved hypothetical protein	<i>rv2514c</i>	VIII.A		-0.35	-0.82	-0.90	-0.96
XF0565	conserved hypothetical protein	<i>tm0696</i>	VIII.A		0.29	-0.40	-0.78	-0.71
XF0843	conserved hypothetical protein	<i>spaC</i>	VIII.A		0.27	-1.31	0.00	-0.11
XF0923	conserved hypothetical protein	<i>smG</i>	VIII.A		-0.21	-0.71	-1.09	-1.13
XF1074	conserved hypothetical protein	<i>ygfY</i>	VIII.A		-0.64	-0.57	-0.88	-0.85
XF1228	conserved hypothetical protein		VIII.A	x	-0.25	-0.61	-1.04	-1.18
XF1411	conserved hypothetical protein		VIII.A	x	-0.20	-0.51	-0.53	-0.67
XF1504	conserved hypothetical protein		VIII.A		-0.21	-0.87	-1.13	-0.83
XF1628	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.26	-0.61	-0.94	-0.49
XF1771	conserved hypothetical protein		VIII.A	x	-0.14	-0.94	-0.24	0.56
XF1829	conserved hypothetical protein	<i>rp471</i>	VIII.A		-0.37	-0.55	-1.28	-0.95
XF1832	conserved hypothetical protein		VIII.A	x	-0.49	-0.51	-0.64	-0.63
XF1835	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.01	-0.41	-0.60	-0.65
XF1895	conserved hypothetical protein	<i>ybgF</i>	VIII.A		-0.25	-0.90	-1.34	-1.05
XF1906	conserved hypothetical protein		VIII.A		-0.34	-0.62	-0.90	-1.18
XF2005	conserved hypothetical protein		VIII.A	x	-0.21	-0.16	-0.44	-0.62
XF2035	conserved hypothetical protein		VIII.A	x	-0.07	-0.13	-0.54	-0.50
XF2103	conserved hypothetical protein		VIII.A	x	0.03	-0.55	-0.50	-0.48
XF2197	conserved hypothetical protein		VIII.A	x	-0.07	-0.84	-0.85	0.11
XF2321	conserved hypothetical protein		VIII.A	x	-0.04	-0.81	-0.72	-0.97
XF2349	conserved hypothetical protein	<i>cpn0796</i>	VIII.A		-0.17	-0.54	-1.13	-1.11
XF2441	conserved hypothetical protein		VIII.A	x	-0.38	-1.22	-0.54	0.00
XF2451	conserved hypothetical protein	<i>ypuG</i>	VIII.A		-0.30	-0.73	-1.05	-0.61
XF2574	conserved hypothetical protein	<i>dr1355</i>	VIII.A		-0.35	-0.69	-0.87	-1.06
XF2650	conserved hypothetical protein		VIII.A	x	0.37	-0.94	0.36	-0.18
XFa0026	conserved hypothetical protein		VIII.A	x	-0.14	-0.24	-0.31	-0.79
XFa0062	conserved hypothetical protein		VIII.A	x	0.25	0.12	-0.58	-0.91
XF0079	hypothetical protein		VIII.B		-0.07	-0.42	-0.77	-0.86
XF0098	hypothetical protein		VIII.B		-0.17	-0.50	-0.66	-0.10
XF0100	hypothetical protein		VIII.B		-0.07	-0.53	-1.59	-1.07
XF0266	hypothetical protein		VIII.B		0.46	-0.33	-0.43	-0.51
XF0440	hypothetical protein		VIII.B		-0.09	-0.52	0.19	0.03
XF0606	hypothetical protein		VIII.B		-0.60	-0.81	-1.13	-0.71
XF0890	hypothetical protein		VIII.B		-0.04	-0.17	-0.54	-0.54
XF0896	hypothetical protein		VIII.B		-0.08	-0.10	-0.69	-0.23
XF0922	hypothetical protein		VIII.B		-0.01	-0.35	-0.51	-0.91

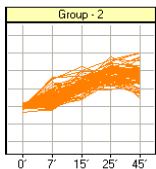
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	M = log ₂ (40°C/29°C)			
					7min	15min	25min	45min
XF0937	hypothetical protein		VIII.B		-0.11	-0.34	-0.45	-0.86
XF1135	hypothetical protein		VIII.B		-0.47	-0.60	-0.07	-0.15
XF1215	hypothetical protein		VIII.B		0.30	-0.29	-0.52	-0.30
XF1217	hypothetical protein		VIII.B		-0.38	-1.13	-2.04	-1.48
XF1218	hypothetical protein		VIII.B		-0.01	-1.30	-2.15	-2.26
XF1219	hypothetical protein		VIII.B		0.10	-1.67	-1.96	-1.97
XF1305	hypothetical protein		VIII.B		-0.15	-0.93	-0.56	-1.17
XF1551	hypothetical protein		VIII.B		0.06	-0.48	0.17	-0.14
XF1826	hypothetical protein		VIII.B		0.39	-0.48	-0.76	-0.60
XF1991	hypothetical protein		VIII.B		-0.43	-0.61	-0.76	-0.22
XF2006	hypothetical protein		VIII.B		-0.27	-0.52	-0.69	-0.80
XF2280	hypothetical protein		VIII.B		-0.24	-0.79	-0.17	-1.29
XF2285	hypothetical protein		VIII.B		-0.13	-0.61	-1.10	-0.63
XF2569	hypothetical protein		VIII.B		-0.24	-1.68	-1.34	0.00
XF2697	hypothetical protein		VIII.B		0.04	-0.31	-0.32	-0.72
XFa0004	hypothetical protein		VIII.B		0.01	-0.46	-0.62	-0.62
XFa0009	hypothetical protein		VIII.B		0.01	-0.21	-0.71	-1.01
XFa0010	hypothetical protein		VIII.B		-0.03	-0.55	-1.45	-1.22
XFa0018	hypothetical protein		VIII.B		0.15	-0.09	-0.64	-0.53
XFa0031	hypothetical protein		VIII.B		-0.70	-0.87	-1.55	-0.93
XFa0054	hypothetical protein		VIII.B		0.19	-0.09	-0.69	-0.51
XFa0058	hypothetical protein		VIII.B		-0.34	-0.36	-0.85	-0.59

Tabela S4: Agrupamento dos genes diferencialmente expressos no choque térmico utilizando o algoritmo *K-means* com 6 grupos. $M = \log_2$ da razão da intensidade de fluorescência no choque térmico em relação à condição controle.



Grupo 1

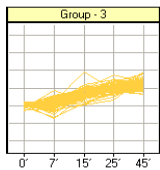
					$M = \log_2(40^\circ\text{C}/29^\circ\text{C})$				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0min	7min	15min	25min	45min	
XF0381	chaperone	<i>clpB</i>	III.C.2	-0.01	1.07	2.30	3.85	3.79	
XF0615	60kDa chaperonin	<i>mopA</i>	III.C.2	-0.02	1.86	2.22	3.93	2.85	
XF0616	10kDa chaperonin	<i>groES</i>	III.C.2	-0.02	1.93	2.79	4.31	3.21	
XF1484	heat shock protein	<i>hslV</i>	III.C.3	0.16	0.91	1.97	3.24	2.75	
XF1694	hypothetical protein		VIII.B	-0.07	0.78	1.74	3.04	2.99	
XF2174	thioredoxin	<i>ybbN</i>	II.D.10	-0.02	1.08	2.03	3.43	3.17	
XF2233	DnaJ protein	<i>dnaJ</i>	III.C.2	0.01	1.32	2.66	3.89	4.17	
XF2234	low molecular weight heat shock protein	<i>hspA</i>	VII.G	-0.04	1.33	3.35	3.44	2.98	
XF2340	DnaK protein	<i>dnaK</i>	III.C.2	0.05	1.15	2.57	3.64	3.78	
XF2341	heat shock protein GrpE	<i>grpE</i>	III.C.2	0.05	1.42	2.32	3.80	3.08	
XF2594	peptidase		III.C.3	0.07	0.79	3.04	3.65	3.91	
XF2625	heat shock protein	<i>htpX</i>	VII.G	0.05	1.48	2.39	3.83	3.64	
XFa0048	putative mobilisation protein	<i>mobC</i>	VI.B	-0.08	2.21	2.79	3.38	2.93	



Grupo 2

					$M = \log_2(40^\circ\text{C}/29^\circ\text{C})$				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0min	7min	15min	25min	45min	
XF0038	hypothetical protein		VIII.B	0.04	0.62	1.10	1.86	0.96	
XF0578	hypothetical protein		VIII.B	-0.04	0.39	1.08	2.08	1.89	
XF0579	hypothetical protein		VIII.B	-0.17	0.43	1.27	1.95	1.75	
XF0684	phage-related protein		VI.A	0.06	0.90	1.21	1.28	1.45	
XF0688	conserved hypothetical		VIII.A	-0.03	0.87	0.89	1.28	0.77	
XF0692	hypothetical protein		VIII.B	0.06	0.17	1.12	1.84	2.01	
XF0695	hypothetical protein		VIII.B	0.08	1.00	1.65	2.19	2.08	
XF0717	conserved hypothetical		VIII.A	0.15	0.39	0.81	1.52	1.00	
XF0718	conserved hypothetical protein		VIII.A	-0.07	0.66	0.91	2.04	1.56	
XF0719	phage-related baseplate assembly protein	<i>gpV</i>	VI.A	0.08	0.59	1.04	1.42	1.58	
XF0806	preprotein translocase SecA subunit	<i>secA</i>	V.A.6	0.02	0.44	1.40	1.90	2.06	
XF0807	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.10	1.04	1.81	1.59	
XF0878	predicted polysaccharide deacetylase		I.A.2	-0.09	0.25	1.57	2.16	2.70	
XF0881	peptidase		III.C.3	-0.08	-0.23	0.97	1.48	1.88	
XF0959	predicted ATPase related to phosphate starvation inducible protein phoH		VII.G	-0.01	0.03	0.40	1.63	1.47	
XF0978	heat shock protein G	<i>htpG</i>	III.C.2	0.02	1.03	1.51	2.06	1.94	
XF1006	conserved hypothetical protein		VIII.A	-0.01	0.59	1.11	1.58	1.73	
XF1008	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.15	0.93	1.29	1.30	1.43	
XF1010	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.12	0.66	1.32	1.51	1.70	
XF1056	conserved hypothetical protein		VIII.A	-0.04	-0.08	0.50	1.79	2.03	
XF1257	oligoribonuclease	<i>orn</i>	III.B.6	-0.07	0.18	0.58	1.68	1.90	
XF1278	predicted membrane protein		IV.A.1	-0.07	-0.08	1.15	1.68	1.82	
XF1373	tRNA pseudouridine synthase A	<i>truA</i>	III.B.4	-0.01	0.07	0.76	1.41	1.96	
XF1374	N-(5'-phosphoribosyl) anthranilate isomerase	<i>trpF</i>	II.A.4	0.06	0.07	0.86	1.45	2.07	
XF1383	helicase, ATP dependent	<i>hrpA</i>	III.A.1	-0.03	0.83	1.35	2.18	1.69	
XF1443	ATP-dependent Clp protease subunit	<i>clpA</i>	III.C.3	-0.04	0.69	1.47	2.23	1.87	
XF1472	benzene 1,2-dioxygenase, ferredoxin protein	<i>bedB</i>	I.A.2	0.11	0.25	1.91	1.40	1.82	
XF1474	ABC transporter membrane protein	<i>ynhC</i>	V.A.7	0.00	0.29	0.46	1.64	1.71	
XF1485	heat shock protein	<i>hslU</i>	III.C.3	-0.01	0.56	1.31	2.25	2.04	
XF1486	conserved hypothetical protein	<i>sc4G6.34</i>	VIII.A	0.03	0.09	0.57	2.14	2.03	
XF1517	general secretory pathway protein E	<i>xpsE</i>	VII.H	-0.10	0.45	0.93	1.47	1.53	
XF1518	general secretory pathway protein F	<i>xpsF</i>	VII.H	-0.03	0.20	0.81	1.51	1.93	

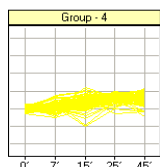
Grupo2 (continuação)				M = log ₂ (40°C/29°C)				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0min	7min	15min	25min	45min
XF1598	phage related protein		VI.A	-0.09	0.91	1.22	1.74	2.69
XF1645	phage-related protein		VI.A	-0.03	-0.03	0.57	1.65	1.74
XF1654	conserved hypothetical protein		VIII.A	-0.03	0.31	1.20	1.12	1.37
XF1663	phage-related protein		VI.A	0.09	0.98	1.03	1.18	0.72
XF1668	HicB-related protein	<i>drb0141</i>	IX	0.12	0.18	1.23	1.50	0.80
XF1693	hypothetical protein		VIII.B	-0.03	0.56	1.27	2.40	2.31
XF1712	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.09	0.12	1.40	1.94	2.17
XF1721	putative transcriptional regulator (LysR family)		I.D	-0.33	-0.15	1.11	1.62	1.36
XF1841	undecaprenol kinase	<i>bacA</i>	VII.C	0.00	-0.13	1.33	1.60	1.85
XF2015	ribose-5-phosphate isomerase A	<i>rpiA</i>	I.B.6	0.09	0.12	1.67	2.11	2.27
XF2016	hypothetical protein		VIII.B	-0.01	0.32	1.09	2.16	1.65
XF2065	hypothetical protein		VIII.B	0.06	0.13	1.27	1.51	1.25
XF2066	plasmid stabilization system protein	<i>yacB</i>	VI.B	0.00	0.48	1.45	1.19	1.42
XF2170	phospholipid-binding protein (COG1881)		IV.A	-0.04	0.24	0.80	2.10	2.80
XF2171	inorganic pyrophosphatase	<i>ppa</i>	I.B.10	0.06	0.26	1.56	2.51	2.98
XF2173	hypothetical protein		VIII.B	-0.08	0.41	1.30	2.28	2.03
XF2185	rare lipoprotein A	<i>rlpA</i>	IV.B	0.03	0.15	0.83	1.59	1.25
XF2196	hemagglutinin-like secreted protein	<i>pspA</i>	VII.F	0.03	0.43	0.44	1.30	2.19
XF2240	negative regulator of sigma E activity	<i>rseA</i>	I.D	-0.03	0.61	1.30	1.55	1.33
XF2241	periplasmic protease	<i>mucD</i>	III.C.3	-0.02	1.20	1.62	2.46	2.19
XF2336	two-component system, regulatory protein	<i>colR</i>	I.D	0.09	-0.10	0.92	1.80	2.03
XF2337	hypothetical protein		VIII.B	-0.10	0.04	1.42	1.79	2.20
XF2338	chorismate mutase	<i>mth1640</i>	II.A.4	-0.03	0.23	2.00	2.61	3.02
XF2339	DnaJ protein	<i>dnaJ</i>	III.C.2	-0.12	0.66	1.29	2.80	2.11
XF2395	acetylxylan esterase	<i>axeA</i>	I.A.2	0.01	0.46	0.93	1.88	1.50
XF2494	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.03	0.38	1.50	2.12	1.97
XF2495	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.01	0.24	1.19	1.67	1.92
XF2510	conserved hypothetical protein		VIII.A	-0.05	0.18	0.93	1.52	2.07
XF2515	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.19	-0.17	0.93	2.44	0.79
XF2522	phage-related protein		VI.A	-0.06	0.76	1.35	1.69	1.31
XF2525	phage-related DNA polymerase	<i>dpoL</i>	VI.A	-0.08	0.43	0.85	2.21	0.44
XF2539	fimbrial protein		IV.D	-0.13	0.39	0.81	1.60	0.54
XF2546	two-component system, sensor protein	<i>pilS</i>	I.D	0.13	0.19	1.02	1.69	1.63
XF2580	30S ribosomal protein S2	<i>rpsB</i>	III.B.2	-0.05	0.89	0.97	1.30	1.36
XF2624	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.19	1.23	1.37	1.60
XF2739	type I restriction-modification system endonuclease	<i>hsdR</i>	III.A.5	0.14	0.43	1.43	2.08	2.18
XFa0024	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.03	0.13	0.90	1.42	2.03
XFa0047	nickase	<i>taxC</i>	VI.B	-0.06	1.60	1.97	2.03	2.12
XFa0049	hypothetical protein		VIII.B	-0.03	1.52	2.25	1.55	2.09
XFa0050	stability partitioning determinant	<i>stbB</i>	VI.B	-0.04	1.64	1.71	1.43	1.64
XFa0051	hypothetical protein		VIII.B	-0.04	1.20	1.25	0.91	1.34
XFa0052	virulence-associated protein D	<i>vapD</i>	VII.H	-0.02	1.36	0.93	0.90	1.35



Grupo 3

Grupo 3				M = log ₂ (40°C/29°C)				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0min	7min	15min	25min	45min
XF0093	protease	<i>ftsH</i>	III.C.3	0.08	-0.06	0.65	0.87	1.35
XF0167	peptidase		III.C.1	0.12	0.07	0.50	0.58	1.11
XF0168	hypothetical protein		VIII.B	0.02	0.27	1.91	0.85	0.63
XF0285	heat shock protein	<i>htrA</i>	VII.G	0.03	0.52	0.86	1.15	1.18
XF0304	protein-export membrane protein	<i>secG</i>	V.A.6	-0.02	0.19	1.22	0.78	0.89
XF0352	pentaphosphate guanosine-3'-pyrophosphohydrolase	<i>spoT</i>	I.D	-0.03	-0.08	1.22	1.45	1.26
XF0354	ATP-dependent DNA helicase	<i>recG</i>	III.A.3	0.03	-0.70	0.60	1.38	1.43
XF0367	voltage-gated potassium channel beta subunit		V.A.4	-0.06	0.24	0.53	1.15	1.06
XF0558	hypothetical protein		VIII.B	0.02	0.25	0.58	1.12	1.05
XF0580	thymidylate kinase	<i>ph1695</i>	II.B.3	0.01	0.07	1.01	0.88	1.11
XF0583	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.21	0.03	0.97	1.55
XF0623	conserved hypothetical		VIII.A	-0.02	0.61	0.41	1.11	0.82
XF0649	rhomboid-like protein		IV.A.1	0.18	0.19	0.73	1.48	1.35
XF0652	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	<i>slyD</i>	III.C.1	-0.03	0.19	0.59	1.08	1.09

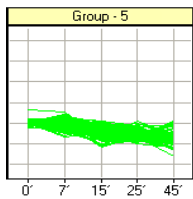
Grupo 3 (continuação)				M = log ₂ (40°C/29°C)				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0min	7min	15min	25min	45min
XF0685	phage-related protein		VI.A	0.04	0.57	0.84	1.31	0.86
XF0704	phage-related protein		VI.A	0.05	0.07	0.54	1.50	0.92
XF0759	N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase precursor	<i>amiC</i>	IV.B	-0.02	0.58	0.66	1.10	0.97
XF0785	sulfur deprivation response regulator	<i>sac1</i>	VII.G	-0.06	0.32	0.48	0.85	0.88
XF0847	beta-hexosaminidase precursor	<i>nahA</i>	IV.A.2	0.04	0.14	0.03	0.33	1.57
XF0848	glycosyl hydrolase, family 18		I.B.2	-0.02	0.13	0.49	0.88	1.31
XF0862	peptidase		III.C.3	-0.06	0.21	0.96	1.36	1.10
XF0879	lipopolysaccharide biosynthesis protein	<i>rfbU</i>	IV.C	-0.08	-0.14	0.39	0.69	1.17
XF0882	ATP-dependent helicase	<i>yoaA</i>	III.A.1	0.02	-0.02	0.90	0.83	1.87
XF0976	C4-dicarboxylate transport protein	<i>dctA</i>	V.A.3	0.03	0.40	0.73	0.97	0.97
XF1018	arginine-tRNA-protein transferase	<i>ate1</i>	III.C.1	-0.05	0.22	0.82	1.13	1.31
XF1021	acyl-CoA thioesterase II	<i>tesB</i>	IX	-0.06	0.01	0.41	1.13	1.26
XF1126	predicted membrane protein		IV.A.1	-0.06	0.49	0.56	0.79	1.07
XF1140	UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase	<i>glmU</i>	IV.A.1	-0.02	0.08	0.98	0.94	0.65
XF1298	electron transfer flavoprotein ubiquinone oxidoreductase	<i>etf-QO</i>	I.C.3	0.06	0.31	0.68	1.21	0.77
XF1316	ATP:GTP 3'-pyrophosphotranferase	<i>relA</i>	I.D	0.02	0.44	0.52	0.81	1.28
XF1459	conserved hypothetical protein		VIII.A	-0.08	-0.68	0.13	0.47	1.47
XF1461	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.05	-0.14	0.89	0.76	1.15
XF1473	aminotransferase	<i>nifS</i>	II.A.2	-0.02	0.37	0.65	1.17	1.01
XF1516	surface-exposed outer membrane protein	<i>uspA1</i>	VII.F	-0.12	0.42	0.48	0.81	0.99
XF1522	general secretory pathway protein J precursor	<i>xpsJ</i>	VII.H	0.03	-0.01	0.24	0.68	1.22
XF1588	putative virulence-associated protein		VII.H	0.04	0.23	1.11	0.84	1.02
XF1659	conserved hypothetical protein		VIII.A	-0.11	0.25	0.86	0.96	1.46
XF1747	nucleoside-diphosphate-sugar epimerases		I.C	0.07	-0.28	0.48	0.80	0.92
XF1796	bifunctional transcriptional repressor of the biotin operon/biotin acetyl-CoA-carboxylase synthetase	<i>birA</i>	IX	-0.03	-0.04	0.33	1.07	1.23
XF1864	phage-related protein		VI.A	-0.12	0.88	0.19	0.62	1.89
XF1867	hypothetical protein		VIII.B	-0.03	0.15	0.56	0.72	1.01
XF2014	conserved hypothetical protein	<i>dr0566</i>	VIII.A	0.02	-0.11	0.44	0.97	1.91
XF2031	plasmid stabilization protein	<i>parD</i>	VI.B	-0.03	0.41	0.72	1.09	0.93
XF2064	hypothetical protein		VIII.B	0.01	0.01	0.68	0.97	1.19
XF2067	hypothetical protein		VIII.B	-0.29	0.36	0.79	1.20	1.32
XF2068	putative stability determinant		VI.B	-0.03	0.35	0.79	1.02	1.34
XF2129	prophage antirepressor		VI.A	0.00	0.40	0.54	1.15	1.22
XF2166	hypothetical protein		VIII.B	0.01	-0.06	0.92	1.73	1.30
XF2184	membrane-bound lytic transglycosylase	<i>mitB</i>	IV.A.2	0.22	0.18	0.68	1.08	0.91
XF2186	conserved rhomboid like protein		IV.A.1	0.03	0.35	0.52	1.21	0.95
XF2231	hypothetical protein		VIII.B	0.04	0.38	0.61	1.37	1.39
XF2251	solute:Na ⁺ symporter	<i>ppa</i>	V.A.7	0.07	0.42	1.00	1.21	1.40
XF2252	predicted membrane protein		IV.A.1	-0.10	0.55	0.61	1.04	1.19
XF2255	acetyl coenzyme A synthetase	<i>acs</i>	I.B.10	-0.06	0.16	0.58	1.23	1.63
XF2256	hypothetical protein		VIII.B	0.12	0.26	0.66	1.00	0.91
XF2377	hypothetical protein		VIII.B	0.05	0.20	0.70	0.80	1.68
XF2456	heme ABC transporter membrane protein	<i>ccmB</i>	V.A.6	-0.05	-0.02	0.53	0.93	1.32
XF2459	c-type cytochrome biogenesis protein	<i>cycJ</i>	I.C.3	-0.21	-0.17	0.61	0.78	1.10
XF2517	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.27	0.52	0.80	1.02
XF2523	phage-related protein		VI.A	0.17	0.37	0.53	1.42	0.80
XF2534	two-component system, regulatory protein	<i>colR</i>	I.D	0.07	0.27	0.89	1.12	1.13
XF2579	elongation factor Ts	<i>tsf</i>	III.C.1	-0.03	0.60	0.91	0.82	0.63
XF2769	hypothetical protein		VIII.B	0.02	0.25	0.52	1.34	1.39
XF2775	hemagglutinin-like secreted protein	<i>pspA</i>	VII.F	0.03	0.10	0.70	0.98	1.20
XFa0020	hypothetical protein		VIII.B	0.05	0.21	1.07	0.91	0.63
XFa0021	hypothetical protein		VIII.B	-0.06	0.42	0.58	1.43	0.99
XFa0023	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.01	0.04	0.64	1.34	1.82
XFa0025	histone acetyltransferase		III.B	-0.01	-0.35	0.46	0.79	1.09
XFa0028	hypothetical protein		VIII.B	-0.03	0.23	0.67	1.18	0.79
XFa0030	hypothetical protein		VIII.B	0.04	-0.40	0.80	0.73	1.47
XFa0063	hypothetical protein		VIII.B	0.03	0.09	0.45	0.91	0.94
XFa0064	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.15	-0.51	0.94	0.70	0.86



Grupo 4

				M = log₂(40°C/29°C)				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0min	7min	15min	25min	45min
XF0140	predicted permease	<i>yjgQ</i>	V.A	-0.02	-0.02	0.16	0.48	0.74
XF0165	beta-lactamase induction signal transducer protein	<i>ampG</i>	VII.C	0.06	0.35	0.58	0.63	0.83
XF0254	electron transfer flavoprotein beta subunit	<i>etfB</i>	I.C.3	-0.01	0.00	-0.02	0.39	1.00
XF0256	glucose-1-phosphate thymidyltransferase	<i>rfaA</i>	IV.A.1	-0.01	0.24	0.49	0.37	0.80
XF0259	phosphomannose isomerase-GDP-mannose pyrophosphorylase	<i>xanB</i>	I.B.11	0.01	0.13	0.28	0.72	1.01
XF0295	type I restriction-modification system endonuclease	<i>mth940</i>	III.A.5	-0.08	0.13	0.55	0.69	0.08
XF0328	conserved hypothetical		VIII.A	0.04	-0.07	0.46	0.65	0.66
XF0338	conserved hypothetical protein	<i>hl0033</i>	VIII.A	-0.01	-0.33	0.40	0.35	0.61
XF0378	thiamin-phosphate pyrophosphorylase	<i>thiE</i>	II.D.8	-0.14	-0.26	0.36	0.98	0.75
XF0383	conserved hypothetical		VIII.A	-0.09	-0.26	0.38	0.44	0.87
XF0384	outer membrane hemin receptor	<i>phuR</i>	IV.A.2	0.01	0.11	0.09	0.52	0.13
XF0390	two-component system, sensor protein	<i>phoQ</i>	I.D	-0.04	-0.11	0.33	0.58	0.74
XF0432	BrkB protein	<i>brk</i>	VII.G	-0.09	-0.03	0.32	0.45	0.59
XF0483	phage-related protein		VI.A	0.02	0.08	0.14	0.45	0.54
XF0517	conserved hypothetical		VIII.A	0.07	0.00	-0.09	0.61	0.48
XF0525	conserved hypothetical		VIII.A	-0.07	-0.02	0.25	0.56	0.46
XF0540	phage-related lysozyme		VI.A	-0.04	0.15	0.53	0.64	0.27
XF0542	hypothetical protein		VIII.B	-0.09	0.03	1.17	0.63	-0.17
XF0556	predicted GTPases (COG1162)	<i>engC</i>	IX	-0.17	0.27	0.48	0.70	0.83
XF0560	GMP synthase	<i>scf55.27</i>	II.B.1	-0.06	0.21	0.65	0.53	0.49
XF0582	hypothetical protein		VIII.B	-0.03	0.13	0.02	0.64	0.69
XF0598	prolyl 4-hydroxylase (P4Hc) alpha subunit		VII.C	-0.04	0.29	0.22	0.63	0.36
XF0626	hypothetical protein		VIII.B	-0.15	-0.23	0.18	0.07	0.68
XF0668	hemolysin-type calcium binding protein	<i>frpC</i>	VII.C	-0.19	0.76	0.98	0.33	0.58
XF0678	phage-related integrase	<i>int</i>	VI.A	0.04	-0.30	0.37	0.44	0.79
XF0741	phenylalanyl-tRNA synthetase alpha chain	<i>pheS</i>	III.B.4	0.00	0.25	0.03	0.82	0.74
XF0777	membrane protein	<i>actI-3</i>	IV.A.1	-0.23	0.03	0.49	0.74	0.95
XF0880	carbonic anhydrase	<i>yadF</i>	I.B.10	0.11	-0.05	0.22	0.51	0.64
XF0910	ubiquinol cytochrome C oxidoreductase, cytochrome C1 subunit	<i>petC</i>	I.C.3	-0.05	0.10	0.44	0.83	0.79
XF0932	ferrous iron transport protein	<i>dr1220</i>	V.A.4	-0.06	0.17	0.70	0.93	0.64
XF0950	riboflavin-specific deaminase	<i>ribD</i>	II.D.9	-0.08	0.12	0.77	0.65	0.52
XF1000	acetylornithine deacetylase	<i>argE</i>	II.A.1	-0.29	-0.03	-0.55	0.31	0.57
XF1003	argininosuccinate lyase	<i>asl</i>	II.A.1	-0.03	0.03	-0.38	0.27	1.01
XF1004	glutamate 5-kinase	<i>dr1827</i>	II.A.1	0.00	0.08	-0.99	-0.01	1.21
XF1020	pathogenicity-related protein		VII.H	0.00	0.25	0.43	0.66	0.52
XF1034	hypothetical protein		VIII.B	0.04	0.06	0.10	0.48	0.63
XF1144	ATP synthase, gamma chain	<i>atpG</i>	I.C.8	0.18	-0.44	0.66	0.56	0.72
XF1151	30S ribosomal protein S10	<i>rpsJ</i>	III.B.2	-0.03	-0.07	-0.27	0.77	1.06
XF1184	hypothetical protein		VIII.B	-0.07	0.29	0.75	0.74	0.34
XF1187	ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit	<i>clpP</i>	III.C.3	-0.01	-0.01	0.41	0.64	0.54
XF1189	ATP-dependent serine proteinase La	<i>lon</i>	III.C.3	0.03	0.13	0.58	0.63	0.61
XF1258	small conductance mechanosensitive ion channel	<i>yggB</i>	V.A.7	-0.01	0.10	0.17	0.56	0.67
XF1314	S-adenosylmethionine: tRNA ribosyltransferase-isomerase	<i>queA</i>	III.B.4	0.00	-0.05	0.14	0.40	0.88
XF1318	conserved hypothetical protein		VIII.A	-0.18	-0.03	0.64	0.78	0.88
XF1354	transcriptional regulator (MarR family)	<i>yybA</i>	I.D	0.02	0.09	0.23	0.41	0.68
XF1375	tryptophan synthase beta chain	<i>trpB</i>	II.A.4	-0.06	0.04	0.20	0.37	0.60
XF1384	conserved hypothetical protein	<i>pqaA</i>	VIII.A	0.09	0.35	0.42	0.89	0.16
XF1415	UDP-N-acetylglucosamine 1-carboxyvinyltransferase	<i>murA</i>	IV.C	-0.04	-0.04	0.32	0.62	0.83
XF1426	ion transporter	<i>dr0830</i>	V.A.4	-0.08	-0.26	0.61	0.51	0.51
XF1436	disulfide oxidoreductase	<i>dsbA</i>	III.C.1	-0.01	0.14	0.23	0.47	0.58
XF1475	ABC transporter ATP-binding protein	<i>yhjD</i>	V.A.7	0.02	0.11	0.35	1.00	0.67
XF1520	general secretory pathway protein H precursor	<i>xpsH</i>	VII.H	-0.03	0.11	0.33	0.51	0.60
XF1524	general secretory pathway protein L	<i>pefL</i>	VII.H	-0.14	-0.07	0.27	0.69	0.69
XF1525	general secretion pathway protein	<i>xpsM</i>	VII.H	-0.04	0.16	0.43	0.57	0.45
XF1531	subunit F of alkyl hydroperoxide reductase	<i>ahpF</i>	VII.C	0.04	0.31	0.67	0.40	0.18
XF1625	two-component system, sensor protein	<i>algZ</i>	I.D	0.06	-0.24	0.19	0.26	0.59
XF1640	ankyrin-like protein	<i>ank2</i>	IV.A.1	-0.06	0.31	0.53	0.49	0.19
XF1647	phage-related protein		VI.A	-0.03	0.66	0.39	0.02	-0.20
XF1703	phage-related protein		VI.A	0.13	0.67	0.67	0.53	0.32
XF1707	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.60	0.50	0.13	0.39

Grupo4 (continuação)				M = log ₂ (40°C/29°C)				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0min	7min	15min	25min	45min
XF1714	heat shock protein HSP33	<i>hslO</i>	VII.G	-0.03	0.19	0.41	0.56	0.64
XF1777	hypothetical protein		VIII.B	-0.04	0.04	0.14	0.45	0.62
XF1795	transcriptional regulator	<i>baf</i>	I.D	-0.07	-0.05	-0.06	0.55	0.75
XF2013	5-formyltetrahydrofolate cyclo-ligase		I.B	0.00	-0.13	-0.06	0.41	0.76
XF2019	Na ⁺ :H ⁺ antiporter	<i>yjcE</i>	V.A.4	0.28	0.29	0.01	0.75	0.85
XF2048	conjugal transfer protein	<i>trbJ</i>	VI.B	0.08	0.61	0.64	-0.28	-0.18
XF2062	transcriptional repressor	<i>korC</i>	I.D	0.02	-0.29	0.24	0.50	0.70
XF2071	predicted transcriptional regulator		I.D	0.00	-0.05	0.21	0.55	0.96
XF2181	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.12	0.55	0.94	0.67
XF2190	conserved hypothetical protein		VIII.A	-0.29	0.49	0.47	0.91	0.77
XF2195	conserved hypothetical protein		VIII.A	-0.02	0.36	0.30	0.52	0.61
XF2257	predicted membrane protein	<i>yebN</i>	IV.A.1	0.01	-0.10	0.76	0.35	0.51
XF2261	oligopeptide transporter	<i>hI0561</i>	V.A.6	-0.01	0.28	0.47	0.55	0.64
XF2267	glycerol uptake facilitator protein	<i>glpF</i>	V.A.3	-0.11	0.17	0.50	0.86	0.22
XF2314	phage-related lysozyme	<i>lycV</i>	VI.A	0.03	0.02	0.28	0.56	0.68
XF2318	hypothetical protein		VIII.B	0.01	0.19	0.29	0.38	0.71
XF2397	toxin secretion ABC transporter ATP-binding protein	<i>hlyB</i>	VII.C	0.10	0.16	0.51	0.75	0.81
XF2398	hemolysin secretion protein D	<i>hlyD</i>	VII.C	0.07	0.10	0.25	0.92	0.96
XF2407	bacteriocin		VII.C	0.07	0.68	0.97	0.63	0.30
XF2537	pre-pilin leader peptidase	<i>xpsO</i>	IV.D	-0.03	0.23	0.35	0.55	0.54
XF2558	chromosome segregation protein	<i>smc</i>	III.A.2	-0.27	-0.49	-0.02	0.65	0.94
XF2578	two-component system, regulatory protein	<i>actR</i>	I.D	0.00	0.07	0.43	0.60	0.64
XF2581	hypothetical protein		VIII.B	-0.04	0.19	1.10	0.65	-0.17
XF2582	ABC transporter ATP-binding protein	<i>dra0349</i>	V.A.7	0.00	-0.05	0.30	0.73	0.98
XF2639	preprotein translocase subunit	<i>secE</i>	V.A.6	-0.02	-0.12	0.03	0.63	0.41
XF2648	glutamyl-tRNA reductase	<i>hemA</i>	II.D.12	-0.07	0.08	0.55	0.48	0.51
XF2650	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.09	0.37	-0.94	0.36	-0.18
XF2651	conserved hypothetical protein	<i>ycbY</i>	VIII.A	-0.06	0.24	0.46	0.73	0.62
XF2666	multiple antibiotic transporter	<i>yhgN</i>	VII.C	-0.14	0.14	0.63	0.65	0.30
XF2709	glutamate synthase, beta subunit	<i>gltD</i>	II.A.1	-0.13	0.42	0.80	0.75	0.77
XF2761	phage-related integrase		VI.A	-0.01	0.03	0.27	0.71	0.83
XF2777	hypothetical protein		VIII.B	-0.05	0.02	0.18	0.88	0.69
XFa0003	topoisomerase I	<i>topA</i>	III.A.1	-0.02	0.07	0.33	0.18	0.75
XFa0037	conjugal transfer protein	<i>trbL</i>	VI.B	-0.01	0.44	0.85	0.58	0.59
XFa0046	predicted transcriptional regulator		I.D	0.03	0.67	0.71	0.67	-0.44
XFb0002	hypothetical protein		VIII.B	-0.04	-0.18	0.64	0.53	0.11

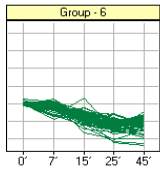


Grupo 5

				M = log ₂ (40°C/29°C)				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0min	7min	15min	25min	45min
XF0009	TonB protein	<i>tonB</i>	VII.C	-0.03	-0.04	-0.52	-0.62	-0.67
XF0010	biopolymer transport ExbB protein	<i>exbB</i>	VII.C	-0.05	0.02	-0.12	-0.69	-0.83
XF0031	PilX protein	<i>pilX</i>	IV.D	0.00	-0.47	-0.84	-0.36	-0.47
XF0079	hypothetical protein		VIII.B	-0.03	-0.07	-0.42	-0.77	-0.86
XF0098	hypothetical protein		VIII.B	-0.05	-0.17	-0.50	-0.66	-0.10
XF0114	2,3,4,5-tetrahydroxyridine-2-carboxylate N-succinyltransferase	<i>dapD</i>	II.A.2	0.01	-0.06	-0.35	-0.58	-0.68
XF0115	arsenate reductase		I.C.3	-0.01	-0.33	-0.22	-0.76	-0.58
XF0169	tyrosyl-tRNA synthetase	<i>tyrS</i>	III.B.4	0.02	-0.37	-0.59	-0.84	-0.74
XF0184	membrane protein implicated in regulation of membrane protease activity	<i>dr2142</i>	III.C	0.01	0.17	-1.07	-0.50	-0.88
XF0192	ATP-dependent RNA helicase	<i>rhlE</i>	III.B.5	0.00	-0.38	-0.46	-0.64	-0.69
XF0211	anthranilate synthase component II	<i>trpG</i>	II.A.4	0.13	0.30	-0.38	-0.51	-0.52
XF0212	anthranilate phosphoribosyltransferase	<i>trpD</i>	II.A.4	0.08	-0.03	-0.23	-0.43	-0.60
XF0213	indole-3-glycerol phosphate synthase	<i>trpC</i>	II.A.4	0.01	-0.21	-0.26	-0.70	-1.23
XF0214	phosphoserine phosphatase		V.A.1	0.00	-0.46	-0.31	-0.74	-0.94
XF0224	preprotein translocase YajC subunit	<i>yajC</i>	V.A.6	0.02	-0.23	-0.47	-0.39	-1.00
XF0228	2-amino-4-hydroxy-6-hydroxymethylidihydropteridine	<i>folK</i>	II.D.2	-0.08	-0.15	0.00	-0.26	-0.68

Grupo 5 (continuação)					M = log ₂ (40°C/29°C)				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0min	7min	15min	25min	45min	
	pyrophosphokinase								
XF0240	predicted transcriptional regulator		I.D	0.04	-0.11	-0.36	-0.88	-0.93	
XF0262	colicin V precursor	<i>cvaC</i>	VII.C	-0.01	-0.51	0.08	-0.85	-1.13	
XF0264	colicin V precursor		VII.C	-0.01	-0.47	0.05	-0.68	-1.15	
XF0266	hypothetical protein		VIII.B	0.02	0.46	-0.33	-0.43	-0.51	
XF0296	type I restriction-modification system specificity determinant		III.A.5	0.03	-0.37	-0.36	-0.61	-0.50	
XF0305	NADH-ubiquinone oxidoreductase, NQO7 subunit	<i>nuoA</i>	I.C.1	0.09	-0.19	-0.42	-0.15	-0.81	
XF0308	NADH-ubiquinone oxidoreductase, NQO4 subunit	<i>nuoD</i>	I.C.1	-0.02	0.04	-0.23	-0.54	-0.81	
XF0312	NADH-ubiquinone oxidoreductase, NQO8 subunit	<i>nuoH</i>	I.C.1	0.03	0.03	0.00	-0.13	-0.84	
XF0316	NADH-ubiquinone oxidoreductase, NQO12 subunit	<i>nuoL</i>	I.C.1	0.00	0.07	-0.01	-0.56	-0.75	
XF0320	Mg ⁺⁺ /citrate complex transporter	<i>citN</i>	V.A.3	-0.07	-0.11	-0.51	-0.66	-0.78	
XF0324	periplasmic iron-binding protein	<i>afuA</i>	V.A.4	0.20	-0.14	-0.62	-0.63	-0.45	
XF0347	D-lactate dehydrogenase	<i>dld1</i>	I.C.1	-0.01	-0.64	-0.46	-0.75	-0.42	
XF0363	OmpA family protein	<i>viaD</i>	IV.A.2	-0.05	-0.05	-0.14	-0.63	-1.03	
XF0366	ribokinase	<i>rbsK</i>	I.A.2	0.10	-0.05	-0.65	-0.65	0.08	
XF0382	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.11	-0.04	-1.13	-0.68	-0.99	
XF0401	two-component system, regulatory protein		I.D	0.07	-0.30	-0.44	-0.49	-0.83	
XF0404	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.01	-0.22	-0.13	-0.70	-0.95	
XF0406	export protein	<i>ygjT</i>	V.A.7	-0.05	-0.50	-0.32	-0.57	-0.50	
XF0407	conserved hypothetical protein	<i>yccW</i>	VIII.A	0.01	-0.12	-0.10	-0.19	-0.72	
XF0445	prolyl-tRNA synthetase	<i>proS</i>	III.B.4	0.01	-0.09	-0.21	-0.69	-1.00	
XF0457	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	<i>gapA</i>	I.C.4	0.03	-0.06	-0.65	-0.87	-0.64	
XF0550	TonB-dependent receptor protein		V.A.7	0.04	0.40	-0.15	-0.55	-0.46	
XF0565	conserved hypothetical protein	<i>tm0696</i>	VIII.A	-0.01	0.29	-0.40	-0.78	-0.71	
XF0587	5'-phosphoribosyl-5-aminoimidazole synthetase	<i>purM</i>	II.B.1	0.02	-0.17	-0.81	-0.64	-0.70	
XF0601	outer membrane protein UptE precursor (PD1550)		IV.A.2	0.00	0.03	-0.06	-0.60	-0.55	
XF0609	GDP-mannose 4,6 dehydratase	<i>gmd</i>	I.B.11	0.03	-0.05	-0.14	-0.82	-1.22	
XF0653	putative lipoprotein		IV.A.2	0.03	-0.08	-0.31	-0.46	-0.46	
XF0670	malonyl CoA-ACP transacylase	<i>fabD</i>	II.E	-0.03	-0.10	-0.36	-0.63	-0.79	
XF0672	acyl carrier protein	<i>acpP</i>	II.E	0.05	0.10	-0.17	-0.25	-0.61	
XF0676	DNA polymerase III, delta subunit	<i>holB</i>	III.A.1	0.06	-0.19	-0.24	-0.46	-0.68	
XF0736	threonyl-tRNA synthetase	<i>thrS</i>	III.B.4	0.04	0.02	-0.12	-0.48	-0.56	
XF0837	organic solvent tolerance precursor	<i>imp</i>	VII.G	0.01	-0.09	-0.71	-0.84	-0.23	
XF0839	pyridoxal phosphate biosynthetic protein	<i>pdxA</i>	II.D.6	0.10	-0.50	-0.42	-0.79	-0.87	
XF0890	hypothetical protein		VIII.B	0.03	-0.04	-0.17	-0.54	-0.54	
XF0896	hypothetical protein		VIII.B	-0.03	-0.08	-0.10	-0.69	-0.23	
XF0922	hypothetical protein		VIII.B	-0.11	-0.01	-0.35	-0.51	-0.91	
XF0937	hypothetical protein		VIII.B	-0.02	-0.11	-0.34	-0.45	-0.86	
XF0946	serine hydroxymethyltransferase	<i>glyA</i>	II.A.3	-0.02	0.22	0.10	-0.55	-0.58	
XF0954	6,7-dimethyl-8-ribityllumazine synthase	<i>ribH</i>	II.D.9	-0.11	-0.12	-0.28	-0.38	-0.67	
XF0955	transcription termination factor	<i>nusB</i>	III.B.5	-0.03	-0.13	-0.17	-0.40	-0.84	
XF0975	polyphosphate-selective porin O	<i>oprO</i>	IV.A.2	-0.08	0.19	-0.72	-0.68	-0.50	
XF0988	dihydroorotase	<i>pyrC</i>	II.B.2	-0.03	-0.13	-0.49	-0.85	-0.44	
XF1026	serine protease	<i>pspB</i>	III.C.3	-0.01	0.12	-0.10	-0.86	-0.64	
XF1044	(3r)-hydroxymyristoyl ACP dehydrase	<i>fabZ</i>	II.E	0.03	0.06	-0.67	-0.69	-0.07	
XF1085	phosphohistidine phosphatase SixA	<i>sixA</i>	IX	0.07	-0.11	-0.08	-0.38	-0.60	
XF1135	hypothetical protein		VIII.B	-0.05	-0.47	-0.60	-0.07	-0.15	
XF1157	50S ribosomal protein L22	<i>rplV</i>	III.B.2	0.64	0.52	-0.72	0.10	-0.56	
XF1159	50S ribosomal protein L16	<i>rplP</i>	III.B.2	-0.01	-0.19	-0.02	-0.22	-0.55	
XF1161	30S ribosomal protein S17	<i>rpsQ</i>	III.B.2	0.19	0.05	-0.35	-0.34	-1.02	
XF1162	50S ribosomal protein L14	<i>rplN</i>	III.B.2	0.01	-0.01	-0.16	-0.52	-1.32	
XF1163	50S ribosomal protein L24	<i>rplX</i>	III.B.2	0.05	0.13	-0.15	-0.30	-0.69	
XF1169	30S ribosomal protein S5	<i>rpsE</i>	III.B.2	0.00	0.30	-0.52	-0.98	-1.14	
XF1171	50S ribosomal protein L15	<i>rplO</i>	III.B.2	-0.03	0.30	-0.16	-0.73	-0.97	
XF1176	RNA polymerase alpha subunit	<i>rpoA</i>	III.B.5	-0.04	0.01	-0.45	-0.51	-0.77	
XF1183	polysaccharide biosynthetic protein	<i>vipA</i>	IV.A.1	-0.04	-0.11	-0.41	-0.39	-0.90	
XF1191	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	<i>ppiD</i>	III.C.1	-0.01	-0.19	-0.79	-0.49	-0.49	
XF1213	GTP-binding elongation factor protein	<i>typA</i>	IX	0.04	-0.01	-0.50	-0.36	-0.58	
XF1215	hypothetical protein		VIII.B	-0.07	0.30	-0.29	-0.52	-0.30	
XF1223	ABC transporter ATP-binding protein	<i>yadG</i>	V.A.7	0.10	-0.37	0.10	-0.61	-0.61	
XF1275	poly(hydroxyalcanoate) granule associated protein	<i>phaF</i>	I.D	0.03	-0.17	-0.05	-0.87	-0.85	
XF1300	ABC-type uncharacterized transport system, auxiliary component		V	-0.01	-0.05	-1.12	-0.73	-0.29	
XF1321	septum site-determining protein	<i>minD</i>	V.B	0.00	0.02	-0.27	-0.84	-0.79	

Grupo 5 (continuação)					M = log ₂ (40°C/29°C)				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0min	7min	15min	25min	45min	
XF1323	predicted acetyltransferase, GNAT superfamily		IX	0.02	-0.37	-0.48	-0.61	-0.47	
XF1409	ABC transporter ATP-binding protein	<i>h11148</i>	V.A.7	-0.07	-0.01	-0.66	-0.76	-0.47	
XF1411	conserved hypothetical protein		VIII.A	-0.06	-0.20	-0.51	-0.53	-0.67	
XF1442	ATP-dependent Clp protease adaptor protein ClpS	<i>clpS</i>	III.B	-0.07	-0.15	-0.52	-0.57	-0.82	
XF1456	2-amino-4-hydroxy-6-hydroxymethyldihydropteridine pyrophosphokinase	<i>folK</i>	II.D.2	-0.02	-0.33	-0.16	-0.47	-0.73	
XF1540	transcriptional regulator (Crp/Fnr family)	<i>clp</i>	I.D	0.07	-0.09	-0.21	-0.40	-0.73	
XF1590	plasmid stabilization protein	<i>y4jJ</i>	VI.B	0.04	0.05	-0.25	0.01	-0.53	
XF1605	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	<i>tp0862</i>	III.C.1	0.08	-0.19	-0.44	-0.72	-0.63	
XF1628	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.16	0.26	-0.61	-0.94	-0.49	
XF1632	twitching motility protein	<i>pilU</i>	IV.D	0.15	0.24	0.01	-0.81	-0.86	
XF1813	methanol dehydrogenase regulatory protein	<i>dr0621</i>	I.D	0.02	-0.06	-0.88	-0.79	-0.58	
XF1814	glycosyl transferase		IV.A.2	0.16	-0.25	-0.38	-0.44	-0.48	
XF1826	hypothetical protein		VIII.B	-0.05	0.39	-0.48	-0.76	-0.60	
XF1827	organic hydroperoxide resistance protein	<i>ohr</i>	VII.C	0.16	0.02	-0.27	-0.81	-1.00	
XF1832	conserved hypothetical protein		VIII.A	-0.04	-0.49	-0.51	-0.64	-0.63	
XF1835	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.01	0.01	-0.41	-0.60	-0.65	
XF1849	two-component system, sensor protein	<i>ntrB</i>	I.D	0.01	-0.19	-0.14	-0.26	-0.46	
XF1890	glutathione peroxidase-like protein	<i>gpo</i>	VII.C	-0.03	0.01	-0.25	-0.81	-0.72	
XF1898	ToIA protein	<i>tolA</i>	VII.C	-0.04	-0.22	-0.31	-0.46	-0.55	
XF1902	holliday junction binding protein, DNA helicase	<i>ruvB</i>	III.A.4	-0.02	0.00	-0.22	-0.55	-1.04	
XF1905	holliday junction resolvase, endodeoxyribonuclease	<i>ruvC</i>	III.A.4	0.03	-0.46	-0.59	-0.82	-0.69	
XF1924	L-aspartate oxidase	<i>sce94.33c</i>	II.D.7	0.01	-0.01	-0.59	-0.68	-0.67	
XF1944	peptidyl-dipeptidase	<i>dcp</i>	III.C.3	-0.01	0.04	-0.31	-0.71	-0.67	
XF1950	CheW like protein		V.C	0.11	-0.26	-0.12	-0.80	-0.89	
XF1956	glutathione synthetase	<i>gshB</i>	II.D.10	0.01	0.12	-0.26	-0.62	-0.53	
XF1991	hypothetical protein		VIII.B	-0.03	-0.43	-0.61	-0.76	-0.22	
XF1996	transcriptional regulator (PbsX family)		I.D	0.01	0.22	-0.52	-0.75	-0.65	
XF1999	branched-chain amino acid aminotransferase	<i>ilvE</i>	II.A.2	0.11	-0.17	-0.66	-0.58	-0.53	
XF2005	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.02	-0.21	-0.16	-0.44	-0.62	
XF2006	hypothetical protein		VIII.B	-0.06	-0.27	-0.52	-0.69	-0.80	
XF2035	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.02	-0.07	-0.13	-0.54	-0.50	
XF2050	conjugal transfer protein	<i>trbH</i>	VI.B	0.04	-0.04	0.09	-0.11	-0.42	
XF2088	predicted mannose-6-phosphate isomerase		I.C	0.11	0.09	0.06	-0.28	-0.87	
XF2103	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.05	0.03	-0.55	-0.50	-0.48	
XF2143	ABC transporter phosphate permease	<i>pstA</i>	V.A.2	0.02	-0.04	-1.04	-0.81	0.06	
XF2197	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.10	-0.07	-0.84	-0.85	0.11	
XF2207	cationic amino acid transporter	<i>sc1c3.02</i>	V.A.1	0.07	0.35	-0.09	-0.19	-0.71	
XF2222	histidyl-tRNA synthetase	<i>hisS</i>	III.B.4	0.00	0.35	-1.09	-0.59	-0.57	
XF2243	GTP binding protein	<i>lepA</i>	IX	-0.03	-0.11	-0.35	-0.37	-0.51	
XF2277	predicted membrane protein		IV.A.1	-0.11	-0.24	-0.43	-0.66	-0.59	
XF2280	hypothetical protein		VIII.B	-0.22	-0.24	-0.79	-0.17	-1.29	
XF2321	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.04	-0.81	-0.72	-0.97	
XF2444	pheromone shutdown protein	<i>traB</i>	VI.B	0.11	-0.38	-1.02	-0.65	-0.65	
XF2511	phage-related protein	<i>ci</i>	VI.A	-0.02	0.06	-0.24	-0.63	-0.90	
XF2526	phage-related protein		VI.A	0.00	-0.09	-0.37	-0.51	-0.48	
XF2545	two-component system, regulatory protein	<i>pilR</i>	I.D	-0.11	-0.09	-0.26	-0.55	-0.77	
XF2635	50S ribosomal protein L10	<i>rplJ</i>	III.B.2	0.06	-0.07	-0.39	-0.61	-0.82	
XF2682	periplasmic glucan biosynthesis protein	<i>mdoG</i>	VII.G	0.10	-0.19	-0.15	-0.59	-0.79	
XF2697	hypothetical protein		VIII.B	-0.02	0.04	-0.31	-0.32	-0.72	
XF2713	tonB-dependent receptor cirA		V.A.4	0.05	-0.08	-0.71	-0.89	-0.49	
XFa0004	hypothetical protein		VIII.B	-0.04	0.01	-0.46	-0.62	-0.62	
XFa0008	conjugal transfer protein	<i>traC</i>	VI.B	0.08	0.04	0.07	-0.65	-1.03	
XFa0009	hypothetical protein		VIII.B	-0.18	0.01	-0.21	-0.71	-1.01	
XFa0018	hypothetical protein		VIII.B	0.05	0.15	-0.09	-0.64	-0.53	
XFa0026	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.02	-0.14	-0.24	-0.31	-0.79	
XFa0036	conjugal transfer protein	<i>trbN</i>	VI.B	-0.01	-0.61	-0.17	-0.46	-0.04	
XFa0042	conjugal transfer protein	<i>trbG</i>	VI.B	0.05	0.23	-0.21	-0.67	-1.59	
XFa0043	conjugal transfer protein	<i>trbF</i>	VI.B	0.02	-0.21	-0.21	-0.75	-0.92	
XFa0054	hypothetical protein		VIII.B	0.03	0.19	-0.09	-0.69	-0.51	
XFa0058	hypothetical protein		VIII.B	0.10	-0.34	-0.36	-0.85	-0.59	
XFa0059	plasmid replication/partition protein	<i>spo0J</i>	VI.B	-0.01	-0.10	0.09	-0.66	-0.55	
XFa0062	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.22	0.25	0.12	-0.58	-0.91	



Grupo 6

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	M = log ₂ (40°C/29°C)				
				0min	7min	15min	25min	45min
XF0083	fimbrial subunit precursor	<i>f17A-A</i>	IV.D	-0.05	0.28	-1.14	-0.87	-1.50
XF0099	dihydroxy-acid dehydratase	<i>ilvD</i>	II.A.2	0.06	-0.22	-0.81	-0.98	-1.01
XF0100	hypothetical protein		VIII.B	0.03	-0.07	-0.53	-1.59	-1.07
XF0102	glycosyl transferase	<i>rfaG</i>	IX	-0.06	0.26	-0.78	-1.54	-0.63
XF0196	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.28	0.09	-0.68	-0.89	-0.86
XF0263	colicin V precursor	<i>cvaC</i>	VII.C	0.02	-0.73	-0.82	-0.97	-1.43
XF0274	6-phosphofructokinase	<i>pfkA</i>	I.C.4	0.06	0.09	-1.04	-0.91	-0.87
XF0319	acetoacetyl-CoA reductase	<i>phbB</i>	II.E	-0.03	-0.02	-0.86	-1.34	-1.82
XF0371	fimbrial assembly membrane protein	<i>pilO</i>	IV.D	0.04	-0.52	-0.79	-0.96	-1.77
XF0372	fimbrial assembly protein	<i>pilP</i>	IV.D	0.00	-0.26	-0.50	-0.94	-1.15
XF0373	fimbrial assembly protein	<i>pilQ</i>	IV.D	-0.02	-0.32	-0.38	-1.08	-0.87
XF0395	bacterioferritin	<i>bfr</i>	V.A.4	0.00	-0.30	-0.85	-1.13	-1.56
XF0403	conserved hypothetical protein		VIII.A	-0.03	-0.28	-0.73	-1.30	-0.94
XF0418	toluene tolerance protein	<i>ttg2D</i>	VII.G	0.09	0.03	-1.19	-1.46	-0.45
XF0450	two-component system, regulatory protein	<i>pilH</i>	I.D	0.05	-0.11	-0.43	-1.07	-0.65
XF0497	conserved hypothetical protein	<i>rv2514c</i>	VIII.A	0.09	-0.35	-0.82	-0.90	-0.96
XF0566	ferrochelataze	<i>hemH</i>	II.D.12	0.06	-0.34	-0.45	-0.63	-1.17
XF0606	hypothetical protein		VIII.B	0.03	-0.60	-0.81	-1.13	-0.71
XF0610	UDP-glucose 4-epimerase	<i>galE</i>	I.A.2	-0.05	-0.13	-0.37	-0.92	-1.03
XF0611	dTDP-glucose 4-6-dehydratase	<i>rfbB</i>	IV.C	-0.09	-0.15	-0.62	-1.34	-1.56
XF0660	exodeoxyribonuclease small subunit	<i>xseB</i>	III.A.4	0.06	-0.10	-0.86	-0.97	-1.03
XF0821	transcriptional regulator (Fur family)	<i>zur</i>	I.D	0.03	0.01	-0.57	-1.19	-1.11
XF0872	outer membrane protein	<i>ompW</i>	IV.A.2	-0.03	0.14	-1.04	-0.63	-1.21
XF0920	DNA topoisomerase I	<i>topA</i>	III.A.1	-0.02	-0.12	-0.92	-1.07	-0.73
XF0923	conserved hypothetical protein	<i>smg</i>	VIII.A	0.06	-0.21	-0.71	-1.09	-1.13
XF0938	putative lipoprotein (competence related)		IV.A.2	0.05	-0.07	-0.88	-1.14	-1.11
XF0994	SufE protein probably involved in Fe-S center assembly		I.B.12	-0.03	-0.06	-0.57	-0.87	-1.10
XF1074	conserved hypothetical protein	<i>ygfY</i>	VIII.A	-0.07	-0.64	-0.57	-0.88	-0.85
XF1146	ATP synthase, delta chain	<i>atpH</i>	I.C.8	-0.08	0.04	-1.20	-1.18	-1.10
XF1147	ATP synthase, B chain	<i>atpF</i>	I.C.8	0.03	-0.09	-1.12	-1.03	-0.64
XF1148	ATP synthase, C chain	<i>atpE</i>	I.C.8	0.00	-0.40	-0.96	-1.37	-1.31
XF1175	30S ribosomal protein S4	<i>rpsD</i>	III.B.2	0.03	-0.02	-0.64	-0.80	-1.01
XF1216	colicin V secretion protein	<i>cvaA</i>	VII.C	0.02	-0.31	-1.44	-1.60	-1.46
XF1217	hypothetical protein		VIII.B	0.04	-0.38	-1.13	-2.04	-1.48
XF1218	hypothetical protein		VIII.B	-0.05	-0.01	-1.30	-2.15	-2.26
XF1219	hypothetical protein		VIII.B	-0.10	0.10	-1.67	-1.96	-1.97
XF1228	conserved hypothetical protein		VIII.A	-0.04	-0.25	-0.61	-1.04	-1.18
XF1305	hypothetical protein		VIII.B	-0.02	-0.15	-0.93	-0.56	-1.17
XF1387	cytochrome O ubiquinol oxidase, subunit IV	<i>cyoD</i>	I.C.3	-0.04	-0.11	-0.54	-1.22	-1.03
XF1388	cytochrome O ubiquinol oxidase, subunit III	<i>cyoC</i>	I.C.3	0.06	0.18	-0.64	-1.08	-1.24
XF1389	cytochrome O ubiquinol oxidase, subunit I	<i>cyoB</i>	I.C.3	0.01	-0.35	-0.73	-1.20	-1.09
XF1408	RNA polymerase sigma-54 factor	<i>rpoN</i>	I.D	-0.05	-0.15	-0.76	-0.96	-0.95
XF1504	conserved hypothetical protein		VIII.A	-0.07	-0.21	-0.87	-1.13	-0.83
XF1549	dihydrodipoamide S-succinyltransferase	<i>sucB</i>	I.C.7	-0.05	-0.29	-0.43	-0.95	-1.28
XF1797	porphyrin biosynthesis protein	<i>hemY</i>	II.D.12	0.00	-0.64	-0.25	-0.90	-1.26
XF1828	ATPase	<i>spbc115</i>	IX	0.03	-0.66	-1.19	-1.42	-1.93
XF1829	conserved hypothetical protein	<i>rp471</i>	VIII.A	0.01	-0.37	-0.55	-1.28	-0.95
XF1894	radical activating enzyme		IX	-0.10	-0.39	-0.47	-1.06	-1.09
XF1895	conserved hypothetical protein	<i>ybgF</i>	VIII.A	-0.05	-0.25	-0.90	-1.34	-1.05
XF1896	outer membrane protein P6 precursor	<i>pal</i>	IV.B	-0.01	-0.13	-0.63	-0.89	-1.45
XF1897	TolB protein precursor	<i>tolB</i>	VII.C	-0.08	-0.27	-0.97	-0.96	-0.80
XF1900	TolQ protein	<i>tolQ</i>	VII.C	-0.02	-0.37	-0.43	-0.79	-1.31
XF1904	holliday junction binding protein, DNA helicase	<i>ruvA</i>	III.A.4	0.00	-0.87	-0.22	-1.08	-1.55
XF1906	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.01	-0.34	-0.62	-0.90	-1.18
XF1923	quinolinate synthetase A	<i>nadA</i>	II.D.7	0.02	-0.27	-0.60	-0.95	-0.71
XF1936	transketolase 1	<i>tktA</i>	I.B.6	-0.03	-0.30	-1.01	-1.44	-1.47

Grupo 6 (continuação)				M = log ₂ (40°C/29°C)				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0min	7min	15min	25min	45min
XF2246	ribonuclease III	<i>rnc</i>	III.B.6	-0.04	-0.10	-0.99	-0.99	-0.84
XF2282	chromosome partitioning protein	<i>parA</i>	V.B	-0.04	-0.38	-0.55	-0.88	-0.98
XF2283	Zn-dependent hydrolases		I.B.4	-0.02	-0.07	-0.44	-0.95	-1.21
XF2285	hypothetical protein		VIII.B	0.04	-0.13	-0.61	-1.10	-0.63
XF2349	conserved hypothetical protein	<i>cpn0796</i>	VIII.A	0.09	-0.17	-0.54	-1.13	-1.11
XF2451	conserved hypothetical protein	<i>ypuG</i>	VIII.A	0.20	-0.30	-0.73	-1.05	-0.61
XF2542	fimbrial protein		IV.D	-0.03	-0.33	-0.82	-2.22	-2.36
XF2547	succinyl-CoA synthetase, beta subunit	<i>sucC</i>	I.C.7	0.01	-0.12	-1.03	-1.70	-1.52
XF2548	succinyl-CoA synthetase, alpha subunit	<i>sucD</i>	I.C.7	0.04	-0.18	-0.67	-1.26	-1.18
XF2568	ABC transporter ATP-binding protein	<i>rfbE</i>	V.A.7	-0.08	-0.20	-1.11	-1.42	-1.26
XF2574	conserved hypothetical protein	<i>dr1355</i>	VIII.A	-0.08	-0.35	-0.69	-0.87	-1.06
XF2588	UDP-2,3-diacetylglucosamine hydrolase	<i>ybbF</i>	IV.C	-0.03	-0.73	-0.40	-0.88	-1.26
XFa0005	conjugal transfer protein	<i>trbC</i>	VI.B	0.00	0.10	-0.39	-1.26	-1.02
XFa0010	hypothetical protein		VIII.B	0.07	-0.03	-0.55	-1.45	-1.22
XFa0031	hypothetical protein		VIII.B	-0.07	-0.70	-0.87	-1.55	-0.93
XFa0060	plasmid replication protein	<i>incC</i>	VI.B	0.03	-0.65	0.33	-1.53	-1.75

Tabela S5: Prováveis promotores dependentes de σ^{32} , encontrados pela análise *in silico* nos genes induzidos pelo choque térmico. A posição +1 corresponde ao códon de início da tradução.

Gene	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	Grupo	-35	Espaçamento	-10	Pontuação	Início -35	Início -10
XF0285	heat shock protein	<i>htrA</i>	VII.G	3	ATTGATA	12	CCATCTAT	2.98	-167	-148
XF0352	pentaphosphate guanosine-3'-pyrophosphohydrolase	<i>spoT</i>	I.D	3	CATGAAC	11	CCGCGCAT	4.17	-85	-67
XF0381	chaperone	<i>clpB</i>	III.C.2	1	CTTGGTC	11	CCTTGAAA	5.33	-97	-79
XF0542	hypothetical protein		VIII.B	4	ATTGGTA	14	CCCAGAAA	2.36	-122	-101
XF0556	predicted GTPases (COG1162)	<i>engC</i>	IX	4	TTTGGAA	9	CCGTGCCT	0.83	-40	-24
XF0583	conserved hypothetical protein		VIII.A	3	CTGGATC	16	CCCCGATA	3.18	-103	-80
XF0616	10kDa chaperonin	<i>groES</i>	III.C.2	1	CTTGAAA	13	CCATATAT	6.63	-153	-133
XF0626	hypothetical protein		VIII.B	4	CTTGAAA	15	CCCAGCAC	4.32	-79	-57
XF0685	phage-related protein		VI.A	3	CTTGAGC	15	CCACCCAA	6.19	-69	-47
XF0717	conserved hypothetical protein		VIII.A	2	CTTCAAA	12	GCCCCGCAT	1.34	-114	-95
XF0718	conserved hypothetical protein		VIII.A	2	CTTTGAA	13	CCCTGTTT	2.78	-171	-151
XF0719	phage-related baseplate assembly protein	<i>gpV</i>	VI.A	2	CTTGGTA	13	CCATGCAG	3.86	-110	-90
XF0847	beta-hexosaminidase precursor	<i>nahA</i>	IV.A.2	3	CTGGGTA	14	CCCCAAAA	3.11	-35	-14
XF0879	lipopolysaccharide biosynthesis protein	<i>rtbU</i>	IV.C	3	CGTGGTC	13	CCAACATT	1.89	-119	-99
XF1003	argininosuccinate lyase	<i>asl</i>	II.A.1	4	CTTGGCC	12	CCGCCATT	2.84	-101	-82
XF1021	acyl-CoA thioesterase II	<i>tesB</i>	IX	3	CTTGATC	16	CCCCGCCA	4.14	-140	-117
XF1144	ATP synthase, gamma chain	<i>atpG</i>	I.C.8	4	CTTGAAT	16	CCTCCCTA	3.29	-50	-27
XF1373	tRNA pseudouridine synthase A	<i>truA</i>	III.B.4	2	CTTGATT	15	CCGCGCGT	1.61	-152	-130
XF1384	conserved hypothetical protein	<i>pqaA</i>	VIII.A	4	CTCGATC	12	CCATGAAA	3.34	-96	-77
XF1426	ion transporter	<i>dr83</i>	V.A.4	4	CTTGACC	14	CCTGGCAT	1.76	-158	-137
XF1474	ABC transporter membrane protein	<i>ynhC</i>	V.A.7	2	GTTGAAA	11	CCCCACCA	1.39	-108	-90
XF1484	heat shock protein	<i>hslV</i>	III.C.3	1	CTTGAAG	13	CCCCATTT	3.77	-51	-31
XF1486	conserved hypothetical protein	<i>sc4G6.34</i>	VIII.A	2	CATGAAC	15	CCCTCAAA	3.41	-153	-131
XF1520	general secretory pathway protein H precursor	<i>xpsF</i>	VII.H	4	CTTGGTC	13	CGCTGAAT	3.11	-164	-144
XF1714	heat shock protein HSP33	<i>hslO</i>	VII.G	4	CTTTGAA	14	CCATGCTT	3.31	-98	-77
XF1795	transcriptional regulator	<i>baf</i>	I.D	4	CTTGGCA	9	CCGCGCTA	3.38	-186	-170
XF1864	phage-related protein		VI.A	3	CTTGATC	11	CCGCAGAA	3.76	-198	-180
XF2071	predicted transcriptional regulator		I.D	4	CTTGAAA	14	CCATGCCA	4.30	-105	-84
XF2234	low molecular weight heat shock protein	<i>hspA</i>	VII.G	1	CTTGAAA	9	CCGTGCTT	6.88	-100	-84
XF2240	negative regulator of sigma E activity	<i>rseA</i>	I.D	2	CTAGAGA	13	CCGCAAAC	0.87	-38	-18
XF2257	predicted membrane protein	<i>yebN</i>	IV.A.1	4	CTTGGGG	12	CCACACAT	3.73	-65	-46
XF2340	DnaK protein	<i>dnaK</i>	III.C.2	1	CTTGAGC	13	CCCCACAT	7.07	-86	-66
XF2341	heat shock protein GrpE	<i>grpE</i>	III.C.2	1	CTTGAAA	12	CCCACATA	5.58	-72	-53
XF2395	acetylxyylan esterase	<i>axeA</i>	I.A.2	2	CGTGGAA	16	GCCTGCAT	0.96	-45	-22
XF2456	heme ABC transporter membrane protein	<i>ccmB</i>	V.A.6	3	CTTGGAC	10	CCAACCTA	5.06	-162	-145
XF2459	c-type cytochrome biogenesis protein	<i>cycJ</i>	I.C.3	3	CTTGACAC	14	CGCCGCAA	1.13	-59	-38
XF2494	conserved hypothetical protein		VIII.A	2	CTTCAAA	12	GCCCCGCAT	1.34	-114	-95
XF2523	phage-related protein		VI.A	3	CTTGAGC	15	CCACCCAA	6.19	-69	-47
XF2625	heat shock protein	<i>htpX</i>	VII.G	1	CTTGATA	14	CCACACAT	7.15	-70	-49
XF2761	phage-related integrase		VI.A	4	CTTGGAA	14	CCTCACGA	3.39	-81	-60
XFa0037	conjugal transfer protein	<i>trbL</i>	VI.B	4	CTTGCTC	16	CGGTGCAT	0.95	-196	-173
XFa0051	hypothetical protein		VIII.B	2	CTTGAAA	16	CCAACAAA	5.73	-76	-53

Tabela S6: Genes induzidos na presença de NaCl. Os genes estão organizados de acordo com a categoria funcional definida por Simpson *et al*, 2000. M = log da razão da intensidade de fluorescência no choque salino em relação à condição controle. Os valores em negrito correspondem aos valores de M considerados induzidos.

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	M = log ₂ (NaCl/controlo)			
					7 min	15 min	30 min	60 min
XF2677	L-ascorbate oxidase	<i>aao</i>	I.A.2		-0.08	0.75	1.27	1.85
XF0392	methionine adenosyltransferase		I.B.10		1.01	1.28	1.82	1.75
XF2390	putative oxidoreductase protein		I.C	X	2.26	4.66	4.21	4.91
XF1802	glycerol-3-phosphate dehydrogenase	<i>gpsA</i>	I.C.1		1.22	2.00	1.07	2.25
XF1146	ATP synthase, delta chain	<i>atpH</i>	I.C.8		0.22	0.69	0.87	0.99
XF1149	ATP synthase, A chain	<i>atpB</i>	I.C.8		1.20	1.98	2.27	2.18
XF0323	two-component system, sensor protein (<i>tctE</i>)		I.D		2.86	3.87	4.24	4.48
XF0390	two-component system, sensor protein		I.D		1.41	2.05	2.02	1.83
XF0401	two-component system, regulatory protein		I.D	X	0.24	0.73	1.37	1.77
XF0833	transcriptional regulator (LysR family)	<i>cysB</i>	I.D		0.42	0.79	1.19	0.93
XF1596	predicted transcriptional regulator		I.D	X	0.43	1.11	1.91	1.99
XF1752	transcriptional regulator (LysR family)		I.D		-0.07	0.68	2.15	3.17
XF1920	Trp operon transcriptional repressor	<i>trpR</i>	I.D		0.27	0.79	0.49	1.29
XF2062	transcriptional repressor	<i>korC</i>	I.D		0.31	1.20	1.53	2.38
XF2085	transcriptional regulator (AcrR family)		I.D		0.36	1.78	1.86	2.92
XF2491	transcriptional regulator		I.D	X	0.53	1.56	1.72	2.13
XF2535	two-component system, sensor protein	<i>colS</i>	I.D		0.92	1.32	0.82	0.57
XFa0001	transcriptional regulator		I.D		1.10	1.63	1.18	0.54
XFa0046	predicted transcriptional regulator		I.D	X	0.32	1.23	0.60	2.20
XFa0057	transcriptional regulator	<i>korA</i>	I.D		0.06	1.08	1.26	2.47
XF1121	5,10-methylenetetrahydrofolate reductase	<i>metF</i>	II.A.2		0.18	0.27	1.62	0.83
XF1371	aspartate-B-semialdehyde dehydrogenase	<i>asd</i>	II.A.2		0.45	0.74	1.03	1.23
XF1914	anthranilate synthase component I	<i>trpE</i>	II.A.4		0.32	1.26	-0.23	1.77
XF1915	anthranilate synthase component II	<i>trpG</i>	II.A.4		3.49	4.71	2.29	6.52
XF2439	cytidylate kinase	<i>cmkA</i>	II.B.2		1.14	1.43	0.79	0.91
XF2698	thioredoxin	<i>trxA</i>	II.D.10		0.39	0.52	0.23	1.07
XF0834	Ubiquinone biosynthesis hydroxylase, UbiH/UbiF/VisC/COQ6	<i>visC</i>	II.D.11	X	-0.15	0.02	0.89	0.76
XF0835	2-octaprenyl-6-methoxyphenol hydroxylase	<i>visB</i>	II.D.11		0.21	0.32	1.15	1.18
XF1397	2-polyprenyl-3-methyl-5-hydroxy-6-metoxo-1,4-benzoquinol methylase / ubiG		II.D.11	X	0.89	1.53	1.28	1.73
XF0832	siroheme synthase	<i>cysG</i>	II.D.12		-0.26	1.16	-0.32	-0.49
XF1797	porphyrin biosynthesis protein	<i>hemY</i>	II.D.12		0.85	1.83	1.96	1.99
XF0193	6-pyruvoyl tetrahydrobiopterin synthase	<i>ygcM</i>	II.D.16		1.03	2.02	1.34	1.74
XF1916	coenzyme F390 synthetase	<i>af1671</i>	II.D.17		0.77	2.40	2.61	3.83
XF0839	pyridoxal phosphate biosynthetic protein	<i>pdxA</i>	II.D.6		0.72	0.94	1.04	0.52
XF0197	acyltransferase		II.E	X	1.02	1.49	0.82	1.61
XF1365	phosphatidylserine decarboxylase	<i>psd</i>	II.E		0.19	0.41	0.82	1.10
XF0811	predicted methyltransferase		III.	X	1.25	1.50	2.20	2.28
XF2122	Zn-finger, CHC2 type		III.A	X	-0.58	0.15	2.63	2.87
XF0001	chromosomal replication initiator	<i>dnaA</i>	III.A.1		0.79	0.93	1.16	1.28
XFa0003	topoisomerase I	<i>topA</i>	III.A.1		-0.01	1.19	1.23	2.32
XF2028	site-specific recombinase	<i>rin</i>	III.A.3		1.04	1.53	0.90	1.63
XFa0019	site-specific recombinase	<i>rin</i>	III.A.3		0.83	1.33	1.38	2.81
XF1904	holliday junction binding protein, DNA helicase	<i>ruvA</i>	III.A.4		0.87	1.82	1.84	2.34
XF1804	site-specific DNA-methyltransferase	<i>sphIM</i>	III.A.5		1.09	1.06	1.06	0.73
XF2297	DNA methylase	<i>sce134.11</i>	III.A.5		1.07	0.72	1.29	1.03
XF2728	type I restriction-modification system DNA methylase	<i>hp0850</i>	III.A.5		0.26	0.25	0.86	0.67
XF1711	Endoribonuclease L-PSP		III.B	X	1.17	2.71	2.39	2.34
XFa0025	histone acetyltransferase		III.B	X	0.64	1.43	0.90	1.70
XF1972	tRNA/rRNA methylase	<i>yibK</i>	III.B.3		0.27	0.84	1.11	1.81
XF2532	ribosomal protein S6 modification protein	<i>rimK</i>	III.B.3		0.92	1.29	1.04	1.13
XF0169	tyrosyl-tRNA synthetase	<i>tyrS</i>	III.B.4		1.78	2.16	1.77	2.01
XF0742	phenylalanyl-tRNA synthetase beta chain	<i>pheT</i>	III.B.4		0.29	0.49	0.70	0.91
XF2563	asparaginyl-tRNA synthetase	<i>asnS</i>	III.B.4		0.97	1.03	1.39	1.40
XF2781	ribonuclease P	<i>rnpA</i>	III.B.4		1.05	1.37	0.31	0.23
XF0234	N utilization substance protein A		III.B.5		0.28	0.83	1.20	1.15
XF1713	heat shock protein HSP33		III.C	X	0.89	0.91	1.90	1.88
XF0111	methionine aminopeptidase	<i>map</i>	III.C.1		1.16	1.22	1.49	1.26
XF1940	peptide methionine sulfoxide reductase	<i>msrA</i>	III.C.1		0.40	0.59	1.25	1.35
XF0220	proline dipeptidase		III.C.3		-0.12	0.14	0.27	1.03

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	M = log ₂ (NaCl/controlo)				
					7 min	15 min	30 min	60 min	
XF0862	peptidase		III.C.3	X	-0.01	-0.44	0.64	1.07	
XF2009	aminopeptidase P	<i>pepP</i>	III.C.3		0.23	0.52	0.68	0.76	
XF0887	mannosyltransferase	<i>mtfA</i>	III.D.1		0.93	1.86	0.53	0.35	
XF2310	CDP-diacylglycerol-glycerol-3-phosphate 3-phosphatidyltransferase	<i>pgsA</i>	III.D.2		0.47	0.75	1.20	1.48	
XF1054	rhomboid-like protein		IV.A.1	X	0.91	1.36	1.69	2.25	
XF1140	UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase	<i>glmU</i>	IV.A.1		0.27	0.96	0.65	1.07	
XF2257	predicted membrane protein	<i>yebN</i>	IV.A.1	X	1.63	3.50	3.03	3.79	
XF1053	outer membrane protein	<i>ompP1</i>	IV.A.2		0.89	1.34	1.96	2.21	
XF2392	autolytic lysozyme	<i>lyc</i>	IV.A.2		0.54	1.15	0.58	2.09	
XF1614	penicillin binding protein	<i>pbp4</i>	IV.B		0.63	1.03	0.68	1.15	
XF1419	acetyltransferase	<i>lpxD</i>	IV.C		0.61	0.61	0.73	1.00	
XF0538	fimbriin		IV.D		0.80	1.32	0.91	1.24	
XF0966	type 4 fimbrial biogenesis protein		IV.D	X	0.69	0.93	0.96	1.18	
XF1372	fimV protein		IV.D	X	0.55	2.63	1.02	1.06	
XF1791	fimbriin		IV.D		1.33	1.61	1.19	1.12	
XF1792	Fimbrial protein pilin		IV.D	X	0.78	1.92	0.79	1.03	
XF2537	pre-pilin leader peptidase	<i>xpsO</i>	IV.D		0.43	1.22	0.54	0.94	
XF2539	fimbrial protein		IV.D		0.62	1.38	0.89	1.46	
XF0063	competence protein F	<i>comF</i>	IX		-0.07	0.94	1.18	1.98	
XF0552	tetrapyrrole methylase family protein		IX	X	0.01	0.33	1.14	1.33	
XF0765	YeeE/YedE integral membrane protein		IX	X	-0.12	-0.17	0.21	1.89	
XF0766	YeeE/YedE integral membrane protein		IX	X	-0.29	0.04	1.52	2.64	
XF1021	acyl-CoA thioesterase II	<i>tesB</i>	IX	X	0.53	1.15	1.13	2.20	
XF1828	ATPase		IX		0.15	0.30	0.85	0.98	
XF1894	radical activating enzyme		IX	X	0.35	0.10	0.47	0.84	
XF1919	iron-sulfur flavoprotein		IX	X	0.50	1.73	3.26	3.53	
XF0437	Mechanosensitive ion channel mscS		V.A	X	0.78	1.17	0.44	0.76	
XF1749	major facilitator superfamily		V.A	X	0.34	0.44	1.10	0.61	
XF0324	periplasmic iron-binding protein		V.A.4		1.23	1.41	2.03	1.92	
XF0406	export protein	<i>ygiT</i>	V.A.7		0.14	0.63	0.69	1.60	
XF0874	ABC transporter permease protein	<i>DR1357</i>	V.A.7		0.91	1.34	1.57	1.80	
XF0875	ABC transporter ATP-binding protein	<i>yusC</i>	V.A.7		0.48	0.23	1.01	1.07	
XF1450	cell division protein	<i>ftsK</i>	V.B		0.57	0.80	1.06	1.35	
XF1950	CheW like protein		V.C	X	0.13	0.68	0.70	1.23	
XF0500	phage-related repressor protein	<i>racR</i>	VI.A		0.58	1.58	0.33	1.18	
XF0704	phage-related protein		VI.A		1.04	1.67	1.79	1.35	
XF0705	phage-related protein		VI.A		0.79	1.36	0.99	1.16	
XF0719	phage-related baseplate assembly protein	<i>gpV</i>	VI.A		-0.02	0.77	1.58	2.26	
XF1587	putative phage related protein		VI.A	X	1.36	2.46	2.50	3.97	
XF1591	phage related protein		VI.A	X	0.38	0.97	0.31	0.61	
XF1593	putative phage related protein		VI.A	X	0.02	0.51	0.98	1.77	
XF1594	putative phage related protein		VI.A	X	1.61	2.35	3.73	4.56	
XF1595	putative phage related protein		VI.A	X	0.42	1.26	2.04	2.28	
XF1598	phage related protein		VI.A	X	0.27	0.72	0.89	1.30	
XF1645	phage-related protein		VI.A		0.90	1.45	1.67	1.67	
XF1667	phage related protein		VI.A	X	0.20	0.80	1.45	1.42	
XF1692	putative phage related protein		VI.A	X	0.14	1.04	1.70	2.82	
XF1700	phage related protein		VI.A	X	0.54	1.63	2.48	3.01	
XF1701	putative phage related protein		VI.A	X	0.46	1.17	1.36	1.88	
XF1705	phage related protein		VI.A	X	0.42	2.19	1.73	2.61	
XF2114	phage related protein		VI.A	X	0.74	1.69	1.68	3.54	
XF2291	phage-related protein		VI.A		0.60	1.38	2.16	1.65	
XF2479	phage-related protein		VI.A		0.26	0.50	1.95	1.82	
XF2480	phage-related tail protein	<i>gpX</i>	VI.A		0.16	-0.05	1.21	0.90	
XF2481	phage-related tail protein	<i>gpU</i>	VI.A		0.18	0.43	1.59	1.74	
XF2489	phage-related baseplate assembly protein	<i>gpW</i>	VI.A		0.33	0.42	1.07	1.08	
XF2492	phage-related baseplate assembly protein	<i>gpV</i>	VI.A		0.29	0.67	1.27	2.20	
XF2526	phage-related protein		VI.A		0.71	1.31	1.70	1.46	
XF2762	phage related protein		VI.A	X	1.07	2.08	2.43	4.28	
XF1589	plasmid stabilization protein	<i>y4jK</i>	VI.B		1.17	2.36	2.81	2.82	
XF1590	plasmid stabilization protein	<i>y4jJ</i>	VI.B		1.47	2.23	2.88	3.15	
XF1708	putative plasmid maintenance system antidote protein, XRE family		VI.B	X	0.00	0.67	1.37	1.89	
XF1709	plasmid maintenance system killer		VI.B	X	0.48	1.45	1.90	2.47	
XF2053	conjugal transfer protein	<i>trbE</i>	VI.B		0.10	0.50	0.43	1.31	

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	M = log ₂ (NaCl/controlo)			
					7 min	15 min	30 min	60 min
XF2066	plasmid stabilization system protein	<i>yacB</i>	VI.B	X	0.50	2.28	3.03	3.60
XF2074	putative protein of the plasmid stabilization system		VI.B	X	1.24	2.12	1.68	2.78
XF2079	conjugal transfer protein		VI.B	X	1.03	1.95	1.63	2.48
XF2080	plasmid stabilization system		VI.B	X	0.40	0.56	0.73	0.89
XF2161	conserved plasmid protein		VI.B		0.36	2.35	2.94	2.83
XFa0002	conjugal transfer protein	<i>virB1</i>	VI.B		1.04	2.69	2.99	3.52
XFa0005	conjugal transfer protein	<i>virB2</i>	VI.B		0.15	0.82	-0.15	1.36
XFa0027	plasmid maintenance protein	<i>pemK</i>	VI.B		0.56	1.18	1.55	2.21
XFa0036	conjugal transfer protein	<i>trbN</i>	VI.B		1.39	1.96	3.82	2.31
XFa0037	conjugal transfer protein	<i>trbL</i>	VI.B		0.30	2.23	2.60	3.22
XFa0047	nickase	<i>taxC</i>	VI.B		0.01	0.57	1.54	2.43
XFa0048	putative mobilisation protein	<i>mobC</i>	VI.B	X	0.01	1.23	2.53	3.63
XFa0050	stability partitioning determinant	<i>stbB</i>	VI.B	X	0.60	1.98	3.04	2.15
XFa0059	plasmid replication/partition protein	<i>spoOJ</i>	VI.B		0.08	1.61	3.75	4.54
XFa0060	plasmid replication protein	<i>incC</i>	VI.B		1.23	3.16	4.04	4.09
XF0536	transposase OrfB		VI.C		0.46	1.05	1.32	1.92
XF2063	DNA-invertase	<i>rin</i>	VI.C		0.75	1.42	1.18	2.27
XF0264	colicin V precursor		VII.C		0.41	0.98	0.44	1.34
XF0300	acriflavin resistance protein		VII.C	X	1.70	1.55	0.52	0.03
XF0768	Beta-lactamase-like		VII.C	X	0.52	2.04	1.85	3.80
XF1220	colicin V secretion ABC transporter ATP-binding protein	<i>cvaB</i>	VII.C		-0.14	0.18	0.81	2.34
XF1361	Beta-lactamase-like		VII.C	X	0.61	1.32	1.11	1.62
XF1841	undecaprenol kinase	<i>bacA</i>	VII.C		1.05	1.01	1.19	1.51
XF2362	GumJ protein	<i>gumJ</i>	VII.E		0.67	1.51	1.20	1.48
XF1516	surface-exposed outer membrane protein	<i>uspA1</i>	VII.F		-0.11	0.09	0.26	1.01
XF1493	virulence regulator	<i>xrvA</i>	VII.H		0.21	1.36	0.69	1.55
XF1518	general secretory pathway protein F	<i>xpsF</i>	VII.H		0.85	1.40	0.66	0.40
XFa0052	virulence-associated protein D	<i>vapD</i>	VII.H		0.66	1.33	1.42	3.14
XF0074	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.86	1.13	0.95	1.07
XF0157	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.00	0.33	0.46	1.19
XF0172	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.08	0.95	1.97	2.44
XF0199	conserved hypothetical protein	<i>CT421</i>	VIII.A		0.26	0.89	1.02	1.60
XF0201	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.69	0.30	0.70	1.38
XF0214	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.95	1.13	0.40	1.00
XF0221	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.11	0.05	0.82	1.22
XF0250	conserved hypothetical protein		VIII.A		2.00	2.62	1.68	0.91
XF0328	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.91	1.17	0.39	0.20
XF0338	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.87	0.86	1.15	1.49
XF0383	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.83	1.20	0.64	1.05
XF0490	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.30	0.26	0.39	0.98
XF0491	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.43	0.75	2.71	2.70
XF0492	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.13	0.49	1.53	1.78
XF0493	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.70	2.12	5.08	5.72
XF0501	conserved hypothetical protein	<i>ydaS</i>	VIII.A		1.06	1.64	3.81	2.51
XF0521	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.27	0.29	1.19	0.74
XF0528	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.57	2.20	2.54	2.96
XF0529	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.37	3.47	3.57	4.34
XF0531	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.95	1.67	1.50	1.89
XF0533	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.74	1.53	1.30	1.68
XF0534	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.70	2.89	2.67	3.13
XF0537	conserved hypothetical protein	<i>gepA</i>	VIII.A		0.51	1.21	0.75	1.56
XF0567	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.61	0.76	1.11	1.10
XF0646	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.32	0.74	0.87	1.18
XF0663	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.65	1.30	0.84	1.92
XF0665	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.16	0.84	1.10	1.53
XF0666	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.29	0.64	0.30	1.30
XF0692	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.61	0.91	0.22	1.73
XF0717	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.04	0.18	0.99	1.81
XF0718	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.12	0.75	1.37	2.49
XF0747	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.63	1.30	1.07	1.19
XF0786	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.52	2.77	2.22	3.56
XF0787	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.14	1.70	-0.30	2.59
XF0844	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.07	0.18	1.25	0.57
XF0916	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.74	1.33	1.37	2.45
XF0917	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.43	1.17	1.40	1.54

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	M = log ₂ (NaCl/controlo)			
					7 min	15 min	30 min	60 min
XF1057	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.99	1.18	0.97	1.16
XF1075	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.26	0.64	1.36	0.61
XF1150	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.36	1.89	1.49	1.70
XF1185	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.19	1.86	1.67	3.09
XF1243	conserved hypothetical protein	<i>yraM</i>	VIII.A		-0.10	1.53	0.39	1.19
XF1245	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	4.46	5.28	1.81	3.17
XF1246	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.90	1.06	1.24	1.35
XF1247	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.98	2.61	1.41	1.41
XF1248	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.66	1.55	1.72	2.08
XF1420	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.08	0.35	0.95	1.60
XF1439	conserved hypothetical protein	<i>yfcC</i>	VIII.A		-0.42	0.47	1.17	1.29
XF1461	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.56	1.47	1.92	1.62
XF1489	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.59	0.92	0.79	1.37
XF1513	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.58	1.23	1.84	2.33
XF1562	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.06	0.33	0.45	0.91
XF1597	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.00	0.45	0.82	1.31
XF1655	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.34	0.84	2.90	3.00
XF1661	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.72	1.13	0.98	2.16
XF1707	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.08	0.11	0.83	1.43
XF1710	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.22	1.52	1.84	2.49
XF1712	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.26	0.77	1.34	1.52
XF1755	conserved hypothetical protein	<i>tiorF29</i>	VIII.A		0.12	1.88	2.66	3.32
XF1756	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.04	1.81	2.47	3.29
XF1757	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.02	0.94	1.58	2.99
XF1770	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.55	0.18	1.12	1.49
XF1780	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.63	1.11	1.53	2.18
XF1789	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.09	1.36	0.44	0.57
XF1790	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.33	1.42	1.07	0.64
XF1798	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.85	1.60	2.14	2.18
XF1814	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.04	1.77	2.23	1.95
XF1860	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.32	0.79	1.44	2.36
XF1865	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.53	0.00	1.82	2.63
XF1868	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.73	1.59	0.92	1.44
XF1877	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.11	1.96	2.02	2.53
XF1917	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.21	2.00	1.70	2.31
XF1918	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.80	2.23	1.92	3.39
XF1973	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.55	1.46	2.54	2.87
XF2001	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.15	0.34	0.92	0.87
XF2003	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.43	0.75	1.05	1.01
XF2027	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.34	0.84	1.24	1.54
XF2037	conserved hypothetical protein	<i>bioF2</i>	VIII.A		0.63	1.19	1.59	1.41
XF2043	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.16	0.52	0.60	1.38
XF2067	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.19	2.25	2.84	2.97
XF2068	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.92	2.03	2.77	2.79
XF2069	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.62	1.33	1.71	2.01
XF2077	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.60	2.67	0.34	2.57
XF2086	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.45	1.06	0.59	2.07
XF2111	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.24	1.39	1.74	3.08
XF2112	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.35	0.83	1.71	2.73
XF2113	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.33	1.40	1.32	3.26
XF2130	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.00	0.86	1.23	1.24
XF2197	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.65	1.89	2.31	3.62
XF2198	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.59	1.51	1.91	3.21
XF2199	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.23	1.13	1.34	2.28
XF2258	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	2.29	3.06	1.96	3.22
XF2307	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	2.43	2.54	1.59	1.60
XF2382	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.93	2.11	1.35	2.84
XF2387	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.63	1.04	0.61	1.11
XF2406	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.59	1.32	0.86	2.14
XF2451	conserved hypothetical protein	<i>ypuG</i>	VIII.A		0.12	0.76	0.98	1.08
XF2490	conserved hypothetical protein	<i>ygiU</i>	VIII.A		0.78	1.12	1.23	1.92
XF2493	conserved hypothetical protein		VIII.A		-0.03	0.38	1.16	2.31
XF2494	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.05	0.32	1.74	2.46
XF2507	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.50	1.01	0.64	1.31
XF2508	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.38	0.90	0.56	1.54

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	M = log ₂ (NaCl/controle)			
					7 min	15 min	30 min	60 min
XF2512	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.49	1.07	0.27	1.04
XF2514	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.41	2.36	2.66	3.42
XF2515	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.20	1.85	1.75	1.89
XF2518	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.15	0.30	0.17	1.72
XF2519	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.22	0.39	0.92	2.26
XF2565	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.31	0.19	1.34	1.71
XF2566	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.07	1.42	1.25	1.47
XF2667	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.05	0.43	3.56	1.04
XF2718	conserved hypothetical protein		VIII.A		1.09	1.02	0.54	1.05
XFa0020	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.51	2.48	2.54	4.30
XFa0022	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.12	2.06	2.64	2.59
XFa0023	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.84	2.17	3.09	3.64
XFa0024	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.39	2.04	3.80	2.42
XFa0026	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.40	1.23	1.14	1.88
XFa0028	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.91	1.69	2.50	2.83
XFa0034	conserved hypothetical protein	<i>stmD1.84</i>	VIII.A		0.48	1.15	2.57	1.71
XFa0035	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.14	2.49	2.92	2.97
XFa0045	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.59	1.38	1.39	1.85
XFa0054	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.58	2.90	2.71	3.71
XFa0055	conserved hypothetical protein	<i>ydiA</i>	VIII.A		-0.05	0.98	1.57	1.71
XFa0062	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.05	0.63	1.20	2.52
XFa0063	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.13	1.03	1.00	1.67
XFa0064	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	2.53	3.96	4.48	4.89
XF0052	hypothetical protein		VIII.B		0.91	0.84	0.91	1.54
XF0070	hypothetical protein		VIII.B		3.85	2.96	2.50	3.04
XF0112	hypothetical protein		VIII.B		1.33	2.05	1.44	1.75
XF0168	hypothetical protein		VIII.B		0.86	1.70	1.21	1.54
XF0195	hypothetical protein		VIII.B		1.77	2.13	2.01	3.02
XF0217	hypothetical protein		VIII.B		0.50	0.87	1.13	1.74
XF0265	hypothetical protein		VIII.B		2.01	0.89	2.19	3.66
XF0289	hypothetical protein		VIII.B		1.24	1.56	1.28	0.86
XF0330	hypothetical protein		VIII.B		1.32	1.60	0.96	1.23
XF0336	hypothetical protein		VIII.B		2.58	3.07	1.44	2.19
XF0337	hypothetical protein		VIII.B		2.03	3.02	2.30	3.56
XF0385	hypothetical protein		VIII.B		0.67	1.50	1.14	1.90
XF0391	hypothetical protein		VIII.B		1.91	3.53	3.63	3.70
XF0551	hypothetical protein		VIII.B		0.15	0.65	1.19	1.28
XF0638	hypothetical protein		VIII.B		0.26	0.65	2.03	1.81
XF0695	hypothetical protein		VIII.B		0.77	2.03	1.67	2.79
XF0746	hypothetical protein		VIII.B		0.85	1.14	0.96	0.93
XF0915	hypothetical protein		VIII.B		1.15	1.41	1.10	0.98
XF1032	hypothetical protein		VIII.B		1.32	1.61	0.34	1.39
XF1095	hypothetical protein		VIII.B		1.09	1.24	-2.56	1.49
XF1184	hypothetical protein		VIII.B		-0.10	1.14	0.92	2.69
XF1308	hypothetical protein		VIII.B		0.71	0.83	0.41	1.22
XF1367	hypothetical protein		VIII.B		0.58	0.83	0.58	1.06
XF1393	hypothetical protein		VIII.B		1.96	2.78	0.65	1.68
XF1396	hypothetical protein		VIII.B		0.91	2.26	2.71	3.51
XF1491	hypothetical protein		VIII.B		1.01	1.31	1.44	2.31
XF1511	hypothetical protein		VIII.B		0.17	0.33	-2.01	1.22
XF1515	hypothetical protein		VIII.B		2.11	2.43	0.00	0.12
XF1542	hypothetical protein		VIII.B		0.62	0.67	1.28	1.26
XF1938	hypothetical protein		VIII.B		0.80	1.19	0.97	1.59
XF1974	hypothetical protein		VIII.B		1.83	1.82	2.65	3.09
XF1977	hypothetical protein		VIII.B		0.80	2.06	1.75	2.11
XF1991	hypothetical protein		VIII.B		1.02	1.29	0.78	1.14
XF2033	hypothetical protein		VIII.B		1.04	2.19	2.13	2.69
XF2034	hypothetical protein		VIII.B		1.04	1.05	0.99	1.04
XF2064	hypothetical protein		VIII.B		0.30	1.06	1.15	2.43
XF2065	hypothetical protein		VIII.B		0.47	1.48	1.69	2.64
XF2078	hypothetical protein		VIII.B		1.47	2.62	3.04	3.80
XF2110	hypothetical protein		VIII.B		0.05	0.74	0.93	1.93
XF2136	hypothetical protein		VIII.B		0.45	0.66	1.12	1.24
XF2350	hypothetical protein		VIII.B		0.37	1.30	0.12	1.22
XF2391	hypothetical protein		VIII.B		0.67	2.55	1.72	2.43

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	M = log ₂ (NaCl/controlo)			
					7 min	15 min	30 min	60 min
XF2467	hypothetical protein		VIII.B		0.66	0.92	1.27	1.47
XF2468	hypothetical protein		VIII.B		0.47	0.80	1.08	1.74
XF2690	hypothetical protein		VIII.B		0.59	1.66	1.10	1.83
XF2745	hypothetical protein		VIII.B		1.04	0.78	1.76	1.84
XF2751	hypothetical protein		VIII.B		0.89	-0.01	0.00	0.00
XF2776	hypothetical protein		VIII.B		0.28	1.40	1.56	2.17
XFa0004	hypothetical protein		VIII.B		0.40	1.12	1.04	2.21
XFa0021	hypothetical protein		VIII.B		0.27	2.51	3.12	4.36
XFa0030	hypothetical protein		VIII.B		1.08	1.93	1.19	1.91
XFa0031	hypothetical protein		VIII.B		1.03	1.28	0.44	1.54
XFa0033	hypothetical protein		VIII.B		0.94	1.13	1.92	1.31
XFa0049	hypothetical protein		VIII.B		1.23	2.24	3.81	3.25
XFa0051	hypothetical protein		VIII.B		0.55	1.88	2.60	3.58
XFa0053	hypothetical protein		VIII.B		0.36	1.72	0.97	2.53
XFa0058	hypothetical protein		VIII.B		0.40	1.11	1.48	2.81
XFb0002	hypothetical protein		VIII.B		0.63	1.06	3.42	3.31

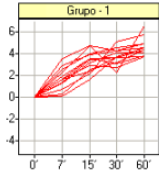
Tabela S7: Genes reprimidos na presença de NaCl. Os genes estão organizados de acordo com a categoria funcional definida por Simpson *et al*, 2000. $M = \log$ da razão da intensidade de fluorescência no choque salino em relação à condição controle. Os valores em negrito correspondem aos valores de M considerados reprimidos.

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	$M = \log_2(\text{NaCl}/\text{controle})$				
					7 min	15 min	30 min	60 min	
XF0610	UDP-glucose 4-epimerase	<i>galE</i>	I.A.2		0.00	-0.36	-0.85	-0.92	
XF0846	beta-mannosidase precursor	<i>TM1624</i>	I.A.2		-0.63	-1.60	-1.10	-1.97	
XF1472	benzene 1,2-dioxygenase, ferredoxin protein	<i>bedB</i>	I.A.2		-0.80	-0.80	-0.85	-1.24	
XF1610	fructokinase		I.A.2		-0.27	-0.70	-0.57	-1.02	
XF2305	Glyoxalase/bleomycin resistance protein/dioxygenase		I.B	X	0.41	0.20	-1.09	-0.53	
XF1037	adenosylhomocysteinase	<i>ahcY</i>	I.B.10		-0.58	-0.80	-1.64	-2.04	
XF2255	acetyl coenzyme A synthetase	<i>acs</i>	I.B.10		-0.86	-0.77	-0.29	0.25	
XF0609	GDP-mannose 4,6 dehydratase	<i>gmd</i>	I.B.11		-0.21	-0.68	-0.81	-1.54	
XF1497	3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate reductase	<i>cysH</i>	I.B.12		-0.73	-1.31	0.30	-0.27	
XF1500	ATP sulfurylase, small subunit	<i>cysD</i>	I.B.12		-0.78	-1.29	-1.43	-1.69	
XF1800	putative rhodanese-like protein		I.B.12	X	-0.02	-0.36	-0.78	-0.89	
XF0657	alkaline phosphatase	<i>phoA</i>	I.B.9		-0.36	-0.60	-0.82	-1.26	
XF2266	glycerol-3-phosphate dehydrogenase	<i>glpD</i>	I.C.1		-0.31	-0.87	-0.99	-1.45	
XF2082	oxidoreductase	<i>spaC</i>	I.C.3		-0.17	-0.54	-0.85	-1.33	
XF0274	6-phosphofructokinase		I.C.4		-0.27	-0.92	-1.64	-2.39	
XF1535	citrate synthase	<i>glfA</i>	I.C.7		-0.01	-0.25	-0.33	-1.15	
XF1855	fumarate hydratase	<i>fumB</i>	I.C.7		-0.47	-0.53	-1.12	-1.25	
XF0125	carbon storage regulator	<i>csrA</i>	I.D		0.02	-0.53	-1.62	-1.58	
XF1477	putative transcriptional regulator, Rrf2 family		I.D	X	-0.45	-0.58	-1.64	-1.83	
XF1552	transcription factor jumonji, jmjC		I.D	X	-0.10	-0.47	-0.33	-0.89	
XF1996	transcriptional regulator (PbsX family)	<i>c2</i>	I.D		-0.13	-0.66	-1.11	-1.55	
XF2165	transcription-related protein	<i>tex</i>	I.D		-0.97	-1.35	-1.59	-2.56	
XF0998	ornithine carbamoyltransferase	<i>argF</i>	II.A.1		0.16	-0.10	0.17	-0.95	
XF0999	argininosuccinate synthase	<i>argG</i>	II.A.1		-0.22	-0.41	-0.29	-1.18	
XF1001	acetylglutamate kinase	<i>argB</i>	II.A.1		-0.62	-0.96	-0.76	-1.17	
XF1002	N-acetyl-gamma-glutamyl-phosphate reductase	<i>af2071</i>	II.A.1		-0.59	-0.87	-0.52	-1.01	
XF1004	glutamate 5-kinase	<i>dr1827</i>	II.A.1		-0.52	-0.76	-0.61	-1.04	
XF0603	cystathionine beta-synthase	<i>cysB</i>	II.A.3		-0.26	-0.69	-0.83	-1.12	
XF0831	cysteine synthase	<i>cysK</i>	II.A.3		-0.33	-0.28	-0.90	-1.07	
XF2214	cyclase	<i>hisF</i>	II.A.5		-0.60	-0.47	-2.80	-0.99	
XF0205	phosphoribosylaminoimidazole-succinocarboxamide synthase	<i>purC</i>	II.B.1		-0.32	-0.44	-0.66	-1.22	
XF0275	adenylate kinase		II.B.1		-0.53	-0.67	-1.40	-1.89	
XF1423	phosphoribosylformylglycinamide synthetase	<i>purL or purI</i>	II.B.1		-0.16	-0.56	-0.31	-0.88	
XF1297	gluconolactonase precursor	<i>scf11.04</i>	II.C		-0.69	-1.09	-1.42	-1.92	
XF1956	glutathione synthetase	<i>gshB</i>	II.D.10		-0.24	-0.76	-0.96	-1.28	
XF2174	thioredoxin	<i>ybbN</i>	II.D.10		-0.30	-0.63	-0.47	-1.22	
XF1456	2-amino-4-hydroxy-6-hydroxymethylidihydropteridine pyrophosphokinase	<i>folK</i>	II.D.2		0.02	-0.25	-1.11	-0.90	
XF0060	pyridoxal phosphate biosynthetic protein	<i>pdxJ</i>	II.D.6		-0.55	-0.87	-1.25	-0.21	
XF0572	beta-hydroxydecanoyl-ACP dehydratase	<i>fabA</i>	II.E		-0.46	-0.89	-2.07	-2.10	
XF1467	acetyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase subunit beta	<i>accD</i>	II.E		-0.51	-0.68	-0.66	-1.29	
XF1539	S-adenosyl methionine decarboxylase proenzyme	<i>speD</i>	II.F		-0.23	-0.95	-1.20	-1.18	
XF2409	DNA helicase		III.A	X	0.08	0.01	-1.63	-2.08	
XF0204	DNA polymerase III, alpha chain	<i>dnaE</i>	III.A.1		-0.60	-1.03	-1.45	-1.78	
XF2025	DNA primase	<i>traC</i>	III.A.1		-0.10	-0.32	-1.26	-0.69	
XF0446	DNA-binding protein	<i>bbh3</i>	III.A.2		0.22	-0.07	-1.31	-1.43	
XF1262	7,8-dihydro-8-oxoguanine-triphosphatase	<i>mutX</i>	III.A.4		-0.59	-0.90	-1.32	-1.69	
XF1909	A/G-specific adenine glycosylase	<i>mutY or mutB</i>	III.A.4		0.02	-0.90	-0.83	-1.28	
XF1155	50S ribosomal protein L2	<i>rplB</i>	III.B.2		0.02	0.11	-1.42	-0.79	
XF1157	50S ribosomal protein L22	<i>rplV</i>	III.B.2		-0.14	-0.38	-1.33	-1.33	
XF1158	30S ribosomal protein S3	<i>rpsC</i>	III.B.2		0.06	-0.26	-0.88	-1.33	
XF1164	50S ribosomal protein L5	<i>rplE</i>	III.B.2		-0.24	-0.61	-0.97	-1.02	
XF1206	50S ribosomal protein L28	<i>rpmB or rp28</i>	III.B.2		-0.08	-0.31	-0.74	-1.29	
XF1207	50S ribosomal protein L33	<i>rpmG or rp33</i>	III.B.2		-0.04	-0.37	-0.89	-1.83	
XF1534	50S ribosomal protein L31	<i>rpmE</i>	III.B.2		-0.10	-0.43	-1.01	-1.69	
XF2421	30S ribosomal protein S20	<i>rpsT</i>	III.B.2		0.64	0.17	-0.91	-1.50	
XF2423	50S ribosomal protein L27	<i>rpmA</i>	III.B.2		-0.14	-0.42	-1.15	-1.66	
XF2424	50S ribosomal protein L21	<i>rplU</i>	III.B.2		-0.10	-0.83	-1.84	-2.32	
XF2560	30S ribosomal protein S18	<i>rpsR</i>	III.B.2		0.07	-0.46	-1.01	-1.44	

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	M = log ₂ (NaCl/controlo)				
				reanotada	7 min	15 min	30 min	60 min
XF2561	30S ribosomal protein S6	<i>rpsF</i>	III.B.2		-0.14	-0.71	-1.24	-1.93
XF0445	prolyl-tRNA synthetase	<i>proS</i>	III.B.4		-0.36	-0.52	-1.32	-1.19
XF0751	ribonuclease D	<i>rnd</i>	III.B.4		-0.01	-0.45	-0.55	-1.06
XF2176	leucyl-tRNA synthetase	<i>leuS</i>	III.B.4		-0.46	-0.65	-0.59	-1.19
XF2222	histidyl-tRNA synthetase	<i>hisS</i>	III.B.4		-0.47	-1.25	-1.23	-1.91
XF1502	RNA polymerase omega subunit	<i>rpoZ</i>	III.B.5		-0.09	-0.65	-1.54	-2.40
XF2638	transcription antitermination factor	<i>nusG</i>	III.B.5		0.03	-0.13	-0.97	-1.06
XF2246	ribonuclease III	<i>rnc</i>	III.B.6		-0.06	-0.46	-0.53	-1.30
XF0353	translation initiation inhibitor		III.C.1		-0.10	-0.62	-1.66	-1.84
XF2244	signal peptidase I	<i>lepB</i>	III.C.1		-0.30	-0.55	-1.33	-1.68
XF2585	protein-L-isoaspartate O-methyltransferase	<i>pcm</i>	III.C.1		-0.22	-0.62	-1.18	-1.32
XF0381	chaperone	<i>clpB</i>	III.C.2	X*	-0.61	-0.52	-1.36	-2.43
XF0615	60kDa chaperonin	<i>groEL</i>	III.C.2		-0.16	-0.47	-1.29	-1.77
XF0616	10kDa chaperonin	<i>groES</i>	III.C.2		-0.15	-0.46	-0.94	-2.11
XF2233	DnaJ protein	<i>dnaJ</i>	III.C.2		-0.27	-0.59	-0.43	-1.16
XF2339	DnaJ protein	<i>dnaJ</i>	III.C.2		-0.25	-0.56	-1.18	-2.01
XF2340	DnaK protein	<i>dnaK</i>	III.C.2		-0.34	-0.58	-1.08	-2.68
XF2341	heat shock protein GrpE	<i>grpE</i>	III.C.2		-0.49	-0.79	-1.50	-3.18
XF0452	integral membrane protease	<i>hflK</i>	III.C.3		-0.08	-0.21	-0.54	-0.97
XF0816	zinc protease	<i>SC9B10.04</i>	III.C.3		-0.23	-0.09	-1.08	-1.96
XF1484	heat shock protein	<i>hslV</i>	III.C.3		-0.36	-0.65	-0.85	-1.23
XF1485	heat shock protein	<i>hslU</i>	III.C.3		-0.23	-0.61	-0.64	-1.47
XF2241	periplasmic protease	<i>mucD</i>	III.C.3		-0.09	-0.08	-1.32	-1.70
XF1382	Ferritin and Dps		IV.A	X	0.00	-0.36	-0.83	-1.39
XF0340	disulfide bond formation protein B		IV.A.1		-0.29	-0.51	-1.40	-1.18
XF2252	predicted membrane protein		IV.A.1	X*	-0.84	-1.08	-2.72	-1.05
XF0847	beta-hexosaminidase precursor	<i>nahA</i>	IV.A.2		-0.84	-0.86	-0.76	-1.61
XF0872	outer membrane protein	<i>ompW</i>	IV.A.2		0.18	-0.04	-0.74	-1.17
XF0975	polyphosphate-selective porin O	<i>oprO</i>	IV.A.2		-0.08	-0.31	-1.20	-1.19
XF1811	outer membrane protein Slp precursor	<i>slp</i>	IV.A.2		-0.23	-0.69	-1.41	-1.27
XF2345	outer membrane protein	<i>smpA</i>	IV.A.2		-0.20	-0.47	-1.72	-1.54
XF1265	Autotransporter beta-domain		IV.A.2	X	-0.93	-1.17	-1.58	-2.03
XF1470	UDP-N-acetylglucosamine--N-acetylmuramyl- (pentapeptide) pyrophosphoryl-undecaprenol		IV.B	X	-0.32	-1.05	-0.85	-1.10
XF2656	N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase, family 2		IV.B	X	-0.61	-0.85	-1.28	-2.05
XF0611	dTDP-glucose 4-6-dehydratase	<i>rfbB</i>	IV.C		-0.14	-0.51	-0.71	-1.35
XF0980	lipopolysaccharide synthesis enzyme	<i>kdtB</i>	IV.C		-0.10	-0.47	-0.58	-1.01
XF0083	fimbrial subunit precursor	<i>F17A-A</i>	IV.D		-0.36	-0.43	-1.04	-0.80
XF0369	fimbrial assembly membrane protein		IV.D		-0.06	-0.58	-1.10	-1.65
XF0370	fimbrial assembly membrane protein		IV.D		0.10	-0.09	-1.32	-1.71
XF0371	fimbrial assembly membrane protein		IV.D		0.50	-0.10	-1.26	-1.76
XF0372	fimbrial assembly protein		IV.D		0.19	-0.36	-1.00	-1.83
XF0373	fimbrial assembly protein		IV.D		0.20	-0.06	-0.67	-1.78
XF2544	pilus biogenesis protein	<i>pilB</i>	IV.D		-0.42	-0.51	-1.18	-1.49
XF0961	bacterioferritin comigratory protein	<i>bcp</i>	IX		-0.02	-0.01	-0.92	-0.85
XF1213	GTP-binding elongation factor protein	<i>typQ</i>	IX		-0.38	-0.72	-0.86	-1.50
XF2243	GTP binding protein	<i>lepA</i>	IX		-0.30	-0.62	-0.99	-1.36
XF1222	ABC transporter permease protein		V.A	X	-0.28	-0.71	-3.35	-1.16
XF2141	ABC transporter phosphate binding protein	<i>phoX</i>	V.A.2		0.24	-0.29	-1.27	-1.26
XF2143	ABC transporter phosphate permease	<i>pstA</i>	V.A.2		-0.44	-1.10	-1.10	-1.14
XF2144	phosphate ABC transporter ATP-binding protein	<i>pstB</i>	V.A.2		-0.48	-0.97	-0.81	-1.03
XF0320	Mg ⁺⁺ /citrate complex transporter		V.A.3		-0.20	-0.52	-0.59	-1.21
XF1067	sugar ABC transporter ATP-binding protein	<i>dr2153</i>	V.A.3		-0.13	-0.44	-1.19	-0.85
XF0185	band 7 protein/ SPFH domain		V.A.4	X	-0.23	-0.28	-0.89	-1.43
XF0224	preprotein translocase YajC subunit		V.A.6		0.02	-0.26	-0.90	-1.36
XF1474	ABC transporter membrane protein	<i>ynhC</i>	V.A.7		-0.79	-0.87	-1.01	-1.47
XF1475	ABC transporter ATP-binding protein	<i>ynhD</i>	V.A.7		-0.73	-0.74	-1.29	-1.57
XF1476	ABC transporter membrane protein	<i>srI4004</i>	V.A.7		-0.69	-0.81	-1.91	-1.74
XF0801	cell division protein	<i>ftsA</i>	V.B		-0.49	-0.60	-0.63	-1.20
XF1124	Maf-like protein		V.B	X	-0.42	-0.52	-0.77	-1.01
XF1321	septum site-determining protein	<i>minD</i>	V.B		-0.28	-0.35	-0.59	-1.07
XF0010	biopolymer transport ExbB protein	<i>exbB</i>	VII.C		-0.08	-0.51	-0.90	-1.24
XF0012	biopolymer transport ExbD2 protein	<i>exbD2</i>	VII.C		-0.12	-0.74	-1.04	-1.37
XF1210	glutathione S-transferase	<i>gst</i>	VII.C		-0.07	-0.41	-1.13	-1.18
XF2094	multidrug-efflux transporter	<i>acrF</i>	VII.C		0.06	-0.92	-1.00	-1.80

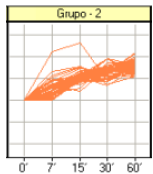
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	M = log ₂ (NaCl/controlo)				
					7 min	15 min	30 min	60 min	
XF2586	outer membrane export factor	<i>tolC</i>	VII.C		-0.07	-0.41	-1.18	-1.31	
XF2778	thiophene and furan oxidation protein	<i>thdF</i>	VII.C		-0.49	-1.83	-0.98	-1.25	
XF2234	low molecular weight heat shock protein	<i>hspA</i>	VII.G		0.02	-0.35	-0.28	-1.40	
XF0287	regulator of pathogenicity factors		VII.H		-0.30	-0.37	-1.24	-1.21	
XF0749	virulence regulator	<i>xrvA</i>	VII.H		-0.15	-1.23	-1.07	-0.95	
XF1517	general secretory pathway protein E	<i>xpsE</i>	VII.H		-0.52	-1.08	-0.79	-0.79	
XF0180	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.29	-0.41	-1.50	-2.25	
XF0184	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.35	-0.55	-1.22	-1.68	
XF0362	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.04	0.12	-1.00	-1.12	
XF0584	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.38	-0.80	-0.99	-1.09	
XF0614	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.43	-1.10	-1.45	-1.73	
XF0625	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.48	-0.62	-1.54	-1.49	
XF0898	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.21	-0.26	-0.61	-1.00	
XF0903	conserved hypothetical protein	<i>H10004</i>	VIII.A		-0.69	-0.85	-0.37	-0.78	
XF1007	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.49	-0.49	-1.74	-1.00	
XF1017	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.45	-0.36	-0.84	-0.56	
XF1102	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.57	-0.86	-1.32	-1.30	
XF1226	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.13	-0.22	-1.32	-0.71	
XF1480	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.40	-0.45	-0.49	-1.44	
XF1649	conserved hypothetical protein	<i>b2360</i>	VIII.A		-0.33	-0.31	-1.00	-0.71	
XF1650	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.40	-0.44	-1.24	-0.80	
XF1771	conserved hypothetical protein		VIII.A	X*	-0.15	-0.55	-1.53	-1.54	
XF1779	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-1.16	-0.95	0.00	0.00	
XF1781	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-1.16	-0.95	0.00	0.00	
XF1874	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.34	0.02	-1.00	-0.26	
XF1884	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.39	-0.54	-2.22	-2.22	
XF1887	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.23	-0.88	-0.68	-1.14	
XF2118	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.48	-0.57	-1.89	-2.20	
XF2245	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.15	-0.65	-1.23	-1.56	
XF2587	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.20	-0.48	-1.14	-1.01	
XF2655	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.44	-0.68	-0.96	-1.64	
XF2747	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.36	-0.92	-0.48	-1.73	
XF0038	hypothetical protein		VIII.B		0.09	0.04	-1.86	-1.09	
XF0364	hypothetical protein		VIII.B		-0.14	-0.19	-1.13	-0.61	
XF0626	hypothetical protein		VIII.B		-0.27	-0.87	-0.85	-1.25	
XF0974	hypothetical protein		VIII.B		-0.30	-0.61	-1.22	-1.74	
XF0990	hypothetical protein		VIII.B		-0.12	-0.74	-1.20	-1.85	
XF1339	hypothetical protein		VIII.B		-0.41	-0.76	-0.82	-1.19	
XF1693	hypothetical protein		VIII.B		-0.16	0.25	-1.47	-0.92	
XF1694	hypothetical protein		VIII.B		-0.15	0.12	-1.20	-1.04	
XF1885	hypothetical protein		VIII.B		-0.35	-0.57	-1.46	-0.74	
XF2569	hypothetical protein		VIII.B		0.08	-0.76	-0.75	-1.05	
XF2731	hypothetical protein		VIII.B		-0.45	-0.82	-0.72	-1.00	
XF2777	hypothetical protein		VIII.B		-0.35	-1.01	-3.59	-4.74	

Tabela S8: Agrupamento dos genes diferencialmente expressos na presença de NaCl utilizando o algoritmo *K-means* com 5 grupos. M = log da razão da intensidade de fluorescência no choque salino em relação à condição controle.



Grupo 1

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	M = log ₂ (NaCl/controlo)				
				0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XF0323	two-component system, sensor protein		I.D	0.00	2.86	3.87	4.24	4.48
XF0391	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.91	3.53	3.63	3.70
XF0493	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.70	2.12	5.08	5.72
XF0529	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.37	3.47	3.57	4.34
XF1594	putative phage related protein		VI.A	0.00	1.61	2.35	3.73	4.56
XF1915	anthranilate synthase component II	<i>trpG</i>	II.A.4	0.00	3.49	4.71	2.29	6.52
XF2257	predicted membrane protein	<i>yebN</i>	IV.A.1	0.00	1.63	3.50	3.03	3.79
XF2390	putative oxidoreductase protein		I.C	0.00	2.26	4.66	4.21	4.91
XFa0021	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.27	2.51	3.12	4.36
XFa0054	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.58	2.90	2.71	3.71
XFa0059	plasmid replication/partition protein	<i>spoOJ</i>	VI.B	0.00	0.08	1.61	3.75	4.54
XFa0060	plasmid replication protein	<i>incC</i>	VI.B	0.00	1.23	3.16	4.04	4.09
XFa0064	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	2.53	3.96	4.48	4.89

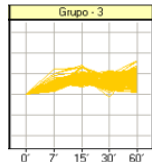


Grupo 2

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	M = log ₂ (NaCl/controlo)				
				0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XF0195	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.77	2.13	2.01	3.02
XF0336	hypothetical protein		VIII.B	0.00	2.58	3.07	1.44	2.19
XF0337	hypothetical protein		VIII.B	0.00	2.03	3.02	2.30	3.56
XF0501	conserved hypothetical protein	<i>ydaS</i>	VIII.A	0.00	1.06	1.64	3.81	2.51
XF0528	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.57	2.20	2.54	2.96
XF0534	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.70	2.89	2.67	3.13
XF0695	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.77	2.03	1.67	2.79
XF0768	Beta-lactamase-like		VII.C	0.00	0.52	2.04	1.85	3.80
XF1149	ATP synthase, A chain	<i>atpB</i>	I.C.8	0.00	1.20	1.98	2.27	2.18
XF1185	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.19	1.86	1.67	3.09
XF1245	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	4.46	5.28	1.81	3.17
XF1396	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.91	2.26	2.71	3.51
XF1587	putative phage related protein		VI.A	0.00	1.36	2.46	2.50	3.97
XF1589	plasmid stabilization protein	<i>y4jK</i>	VI.B	0.00	1.17	2.36	2.81	2.82
XF1590	plasmid stabilization protein	<i>y4jJ</i>	VI.B	0.00	1.47	2.23	2.88	3.15
XF1655	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.34	0.84	2.90	3.00
XF1700	phage related protein		VI.A	0.00	0.54	1.63	2.48	3.01
XF1711	Endoribonuclease L-PSP		III.B	0.00	1.17	2.71	2.39	2.34
XF1755	conserved hypothetical protein	<i>tiorf29</i>	VIII.A	0.00	0.12	1.88	2.66	3.32
XF1756	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.04	1.81	2.47	3.29
XF1877	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.11	1.96	2.02	2.53
XF1916	coenzyme F390 synthetase	<i>af1671</i>	II.D.17	0.00	0.77	2.40	2.61	3.83
XF1918	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.80	2.23	1.92	3.39
XF1919	iron-sulfur flavoprotein		IX	0.00	0.50	1.73	3.26	3.53
XF1973	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.55	1.46	2.54	2.87
XF1974	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.83	1.82	2.65	3.09
XF2033	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.04	2.19	2.13	2.69
XF2066	plasmid stabilization system protein	<i>yacB</i>	VI.B	0.00	0.50	2.28	3.03	3.60
XF2067	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.19	2.25	2.84	2.97
XF2068	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.92	2.03	2.77	2.79
XF2074	putative protein of the plasmid stabilization system		VI.B	0.00	1.24	2.12	1.68	2.78
XF2078	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.47	2.62	3.04	3.80
XF2085	transcriptional regulator (AcrR family)	<i>SCI30A.12</i>	I.D	0.00	0.36	1.78	1.86	2.92

Grupo2 (continuação)

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	M = log ₂ (NaCl/controlo)				
				0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XF2114	phage related protein		VI.A	0.00	0.74	1.69	1.68	3.54
XF2161	conserved plasmid protein		VI.B	0.00	0.36	2.35	2.94	2.83
XF2197	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.65	1.89	2.31	3.62
XF2258	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	2.29	3.06	1.96	3.22
XF2382	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.93	2.11	1.35	2.84
XF2514	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.41	2.36	2.66	3.42
XF2762	phage related protein		VI.A	0.00	1.07	2.08	2.43	4.28
XFa0002	conjugal transfer protein	<i>traL</i>	VI.B	0.00	1.04	2.69	2.99	3.52
XFa0020	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.51	2.48	2.54	4.30
XFa0022	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.12	2.06	2.64	2.59
XFa0023	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.84	2.17	3.09	3.64
XFa0024	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.39	2.04	3.80	2.42
XFa0028	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.91	1.69	2.50	2.83
XFa0035	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.14	2.49	2.92	2.97
XFa0036	conjugal transfer protein	<i>trbN</i>	VI.B	0.00	1.39	1.96	3.82	2.31
XFa0037	conjugal transfer protein	<i>trbL</i>	VI.B	0.00	0.30	2.23	2.60	3.22
XFa0049	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.23	2.24	3.81	3.25
XFa0050	stability partitioning determinant	<i>stbB</i>	VI.B	0.00	0.60	1.98	3.04	2.15
XFa0051	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.55	1.88	2.60	3.58
XFb0002	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.63	1.06	3.42	3.31

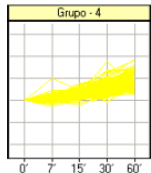


Grupo 3

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	M = log ₂ (NaCl/controlo)				
				0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XF0001	chromosomal replication initiator	<i>dnaA</i>	III.A.1	0.00	0.79	0.93	1.16	1.28
XF0074	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.86	1.13	0.95	1.07
XF0111	methionine aminopeptidase	<i>map</i>	III.C.1	0.00	1.16	1.22	1.49	1.26
XF0112	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.33	2.05	1.44	1.75
XF0168	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.86	1.70	1.21	1.54
XF0169	tyrosyl-tRNA synthetase	<i>tyrS</i>	III.B.4	0.00	1.78	2.16	1.77	2.01
XF0193	6-pyruvoyl tetrahydrobiopterin synthase	<i>ycgM</i>	II.D.16	0.00	1.03	2.02	1.34	1.74
XF0197	acyltransferase		II.E	0.00	1.02	1.49	0.82	1.61
XF0214	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.95	1.13	0.40	1.00
XF0250	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	2.00	2.62	1.68	0.91
XF0289	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.24	1.56	1.28	0.86
XF0324	periplasmic iron-binding protein		V.A.4	0.00	1.23	1.41	2.03	1.92
XF0328	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.91	1.17	0.39	0.20
XF0330	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.32	1.60	0.96	1.23
XF0338	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.87	0.86	1.15	1.49
XF0383	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.83	1.20	0.64	1.05
XF0385	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.67	1.50	1.14	1.90
XF0390	two-component system, sensor protein		I.D	0.00	1.41	2.05	2.02	1.83
XF0392	methionine adenosyltransferase		I.B.10	0.00	1.01	1.28	1.82	1.75
XF0437	Mechanosensitive ion channel mscS		V.A	0.00	0.78	1.17	0.44	0.76
XF0500	phage-related repressor protein	<i>racR</i>	VI.A	0.00	0.58	1.58	0.33	1.18
XF0531	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.95	1.67	1.50	1.89
XF0533	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.74	1.53	1.30	1.68
XF0537	conserved hypothetical protein	<i>gepA</i>	VIII.A	0.00	0.51	1.21	0.75	1.56
XF0538	fimbrillin		IV.D	0.00	0.80	1.32	0.91	1.24
XF0663	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.65	1.30	0.84	1.92
XF0704	phage-related protein		VI.A	0.00	1.04	1.67	1.79	1.35
XF0705	phage-related protein		VI.A	0.00	0.79	1.36	0.99	1.16
XF0746	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.85	1.14	0.96	0.93
XF0747	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.63	1.30	1.07	1.19
XF0787	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.14	1.70	-0.30	2.59
XF0811	predicted methyltransferase		III.	0.00	1.25	1.50	2.20	2.28
XF0874	ABC transporter permease protein	<i>DR1357</i>	V.A.7	0.00	0.91	1.34	1.57	1.80
XF0887	mannosyltransferase	<i>mtfA</i>	III.D.1	0.00	0.93	1.86	0.53	0.35
XF0915	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.15	1.41	1.10	0.98
XF0916	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.74	1.33	1.37	2.45

Grupo3 (continuação)				M = log ₂ (NaCl/controle)				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XF1032	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.32	1.61	0.34	1.39
XF1053	outer membrane protein	<i>ompP1</i>	IV.A.2	0.00	0.89	1.34	1.96	2.21
XF1054	rhomboid-like protein		IV.A.1	0.00	0.91	1.36	1.69	2.25
XF1057	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.99	1.18	0.97	1.16
XF1150	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.36	1.89	1.49	1.70
XF1246	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.90	1.06	1.24	1.35
XF1247	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.98	2.61	1.41	1.41
XF1248	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.66	1.55	1.72	2.08
XF1361	Beta-lactamase-like		VII.C	0.00	0.61	1.32	1.11	1.62
XF1372	fimV protein		IV.D	0.00	0.55	2.63	1.02	1.06
XF1393	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.96	2.78	0.65	1.68
XF1397	2-polyprenyl-3-methyl-5-hydroxy-6-metoxo-1,4-benzoquinol methylase / ubiG		II.D.11	0.00	0.89	1.53	1.28	1.73
XF1461	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.56	1.47	1.92	1.62
XF1491	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.01	1.31	1.44	2.31
XF1493	virulence regulator	<i>xrvA</i>	VII.H	0.00	0.21	1.36	0.69	1.55
XF1513	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.58	1.23	1.84	2.33
XF1518	general secretory pathway protein F	<i>xpsF</i>	VII.H	0.00	0.85	1.40	0.66	0.40
XF1645	phage-related protein		VI.A	0.00	0.90	1.45	1.67	1.67
XF1661	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.72	1.13	0.98	2.16
XF1701	putative phage related protein		VI.A	0.00	0.46	1.17	1.36	1.88
XF1705	phage related protein		VI.A	0.00	0.42	2.19	1.73	2.61
XF1709	plasmid maintenance system killer		VI.B	0.00	0.48	1.45	1.90	2.47
XF1780	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.63	1.11	1.53	2.18
XF1789	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.09	1.36	0.44	0.57
XF1790	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.33	1.42	1.07	0.64
XF1791	fimbrillin		IV.D	0.00	1.33	1.61	1.19	1.12
XF1792	Fimbrial protein pilin		IV.D	0.00	0.78	1.92	0.79	1.03
XF1797	porphyrin biosynthesis protein	<i>hemY</i>	II.D.12	0.00	0.85	1.83	1.96	1.99
XF1798	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.85	1.60	2.14	2.18
XF1802	glycerol-3-phosphate dehydrogenase	<i>gpsA</i>	I.C.1	0.00	1.22	2.00	1.07	2.25
XF1804	site-specific DNA-methyltransferase	<i>sphIM</i>	III.A.5	0.00	1.09	1.06	1.06	0.73
XF1814	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.04	1.77	2.23	1.95
XF1841	undecaprenol kinase	<i>bacA</i>	VII.C	0.00	1.05	1.01	1.19	1.51
XF1868	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.73	1.59	0.92	1.44
XF1904	holliday junction binding protein, DNA helicase	<i>ruvA</i>	III.A.4	0.00	0.87	1.82	1.84	2.34
XF1917	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.21	2.00	1.70	2.31
XF1938	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.80	1.19	0.97	1.59
XF1977	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.80	2.06	1.75	2.11
XF1991	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.02	1.29	0.78	1.14
XF2028	site-specific recombinase	<i>rin</i>	III.A.3	0.00	1.04	1.53	0.90	1.63
XF2034	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.04	1.05	0.99	1.04
XF2037	conserved hypothetical protein	<i>bioF2</i>	VIII.A	0.00	0.63	1.19	1.59	1.41
XF2063	DNA-invertase	<i>rin</i>	VI.C	0.00	0.75	1.42	1.18	2.27
XF2065	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.47	1.48	1.69	2.64
XF2069	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.62	1.33	1.71	2.01
XF2077	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.60	2.67	0.34	2.57
XF2079	conjugal transfer protein		VI.B	0.00	1.03	1.95	1.63	2.48
XF2113	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.33	1.40	1.32	3.26
XF2130	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.00	0.86	1.23	1.24
XF2198	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.59	1.51	1.91	3.21
XF2291	phage-related protein		VI.A	0.00	0.60	1.38	2.16	1.65
XF2297	DNA methylase	<i>sce134.11</i>	III.A.5	0.00	1.07	0.72	1.29	1.03
XF2307	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	2.43	2.54	1.59	1.60
XF2350	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.37	1.30	0.12	1.22
XF2362	GumJ protein	<i>gumJ</i>	VII.E	0.00	0.67	1.51	1.20	1.48
XF2391	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.67	2.55	1.72	2.43
XF2392	autolytic lysozyme	<i>lyc</i>	IV.A.2	0.00	0.54	1.15	0.58	2.09
XF2406	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.59	1.32	0.86	2.14
XF2439	cytidylate kinase	<i>cmkA</i>	II.B.2	0.00	1.14	1.43	0.79	0.91
XF2490	conserved hypothetical protein	<i>ygiU</i>	VIII.A	0.00	0.78	1.12	1.23	1.92
XF2491	transcriptional regulator		I.D	0.00	0.53	1.56	1.72	2.13
XF2515	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.20	1.85	1.75	1.89
XF2526	phage-related protein		VI.A	0.00	0.71	1.31	1.70	1.46
XF2532	ribosomal protein S6 modification protein	<i>rimK</i>	III.B.3	0.00	0.92	1.29	1.04	1.13

Grupo3 (continuação)				M = log ₂ (NaCl/controlo)				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XF2535	two-component system, sensor protein	<i>colS</i>	I.D	0.00	0.92	1.32	0.82	0.57
XF2537	pre-pilin leader peptidase	<i>xpsO</i>	IV.D	0.00	0.43	1.22	0.54	0.94
XF2539	fimbrial protein		IV.D	0.00	0.62	1.38	0.89	1.46
XF2563	asparaginyl-tRNA synthetase	<i>asnS</i>	III.B.4	0.00	0.97	1.03	1.39	1.40
XF2566	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.07	1.42	1.25	1.47
XF2690	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.59	1.66	1.10	1.83
XF2718	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.09	1.02	0.54	1.05
XF2745	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.04	0.78	1.76	1.84
XF2781	ribonuclease P	<i>rnpA</i>	III.B.4	0.00	1.05	1.37	0.31	0.23
XFa0001	transcriptional regulator		I.D	0.00	1.10	1.63	1.18	0.54
XFa0019	site-specific recombinase	<i>rin</i>	III.A.3	0.00	0.83	1.33	1.38	2.81
XFa0025	histone acetyltransferase		III.B	0.00	0.64	1.43	0.90	1.70
XFa0026	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.40	1.23	1.14	1.88
XFa0027	plasmid maintenance protein	<i>pemK</i>	VI.B	0.00	0.56	1.18	1.55	2.21
XFa0030	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.08	1.93	1.19	1.91
XFa0031	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.03	1.28	0.44	1.54
XFa0033	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.94	1.13	1.92	1.31
XFa0045	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.59	1.38	1.39	1.85
XFa0046	predicted transcriptional regulator		I.D	0.00	0.32	1.23	0.60	2.20
XFa0052	virulence-associated protein D	<i>vapD</i>	VII.H	0.00	0.66	1.33	1.42	3.14
XFa0053	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.36	1.72	0.97	2.53

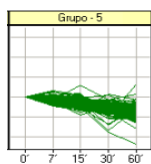


Grupo 4

Grupo 4				M = log ₂ (NaCl/controlo)				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XF0052	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.91	0.84	0.91	1.54
XF0063	competence protein F	<i>comF</i>	IX	0.00	-0.07	0.94	1.18	1.98
XF0157	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.00	0.33	0.46	1.19
XF0172	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.08	0.95	1.97	2.44
XF0199	conserved hypothetical protein	<i>CT421</i>	VIII.A	0.00	0.26	0.89	1.02	1.60
XF0201	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.69	0.30	0.70	1.38
XF0217	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.50	0.87	1.13	1.74
XF0220	proline dipeptidase		III.C.3	0.00	-0.12	0.14	0.27	1.03
XF0221	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.11	0.05	0.82	1.22
XF0234	N utilization substance protein A		III.B.5	0.00	0.28	0.83	1.20	1.15
XF0264	colicin V precursor		VII.C	0.00	0.41	0.98	0.44	1.34
XF0265	hypothetical protein		VIII.B	0.00	2.01	0.89	2.19	3.66
XF0401	two-component system, regulatory protein		I.D	0.00	0.24	0.73	1.37	1.77
XF0406	export protein	<i>ygiT</i>	V.A.7	0.00	0.14	0.63	0.69	1.60
XF0490	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.30	0.26	0.39	0.98
XF0491	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.43	0.75	2.71	2.70
XF0492	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.13	0.49	1.53	1.78
XF0521	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.27	0.29	1.19	0.74
XF0536	transposase OrfB		VI.C	0.00	0.46	1.05	1.32	1.92
XF0551	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.15	0.65	1.19	1.28
XF0552	tetrapyrrole methylase family protein		IX	0.00	0.01	0.33	1.14	1.33
XF0567	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.61	0.76	1.11	1.10
XF0638	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.26	0.65	2.03	1.81
XF0646	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.32	0.74	0.87	1.18
XF0665	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.16	0.84	1.10	1.53
XF0666	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.29	0.64	0.30	1.30
XF0692	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.61	0.91	0.22	1.73
XF0717	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.04	0.18	0.99	1.81
XF0718	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.12	0.75	1.37	2.49
XF0719	phage-related baseplate assembly protein	<i>gpV</i>	VI.A	0.00	-0.02	0.77	1.58	2.26
XF0742	phenylalanyl-tRNA synthetase beta chain	<i>pheT</i>	III.B.4	0.00	0.29	0.49	0.70	0.91
XF0765	YeeE/YedE integral membrane protein		IX	0.00	-0.12	-0.17	0.21	1.89
XF0766	YeeE/YedE integral membrane protein		IX	0.00	-0.29	0.04	1.52	2.64
XF0833	transcriptional regulator (LysR family)	<i>cysB</i>	I.D	0.00	0.42	0.79	1.19	0.93

Grupo4 (continuação)				M = log ₂ (NaCl/controle)				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XF0834	Ubiquinone biosynthesis hydroxylase, UbiH/UbiF/VisC/COQ6	<i>visC</i>	II.D.11	0.00	-0.15	0.02	0.89	0.76
XF0835	2-octaprenyl-6-methoxyphenol hydroxylase	<i>visB</i>	II.D.11	0.00	0.21	0.32	1.15	1.18
XF0839	pyridoxal phosphate biosynthetic protein	<i>pdxA</i>	II.D.6	0.00	0.72	0.94	1.04	0.52
XF0844	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.07	0.18	1.25	0.57
XF0862	peptidase		III.C.3	0.00	-0.01	-0.44	0.64	1.07
XF0875	ABC transporter ATP-binding protein	<i>yusC</i>	V.A.7	0.00	0.48	0.23	1.01	1.07
XF0917	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.43	1.17	1.40	1.54
XF0966	type 4 fimbrial biogenesis protein		IV.D	0.00	0.69	0.93	0.96	1.18
XF1021	acyl-CoA thioesterase II	<i>tesB</i>	IX	0.00	0.53	1.15	1.13	2.20
XF1075	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.26	0.64	1.36	0.61
XF1121	5,10-methylenetetrahydrofolate reductase	<i>metF</i>	II.A.2	0.00	0.18	0.27	1.62	0.83
XF1140	UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase	<i>glmU</i>	IV.A.1	0.00	0.27	0.96	0.65	1.07
XF1146	ATP synthase, delta chain	<i>atpH</i>	I.C.8	0.00	0.22	0.69	0.87	0.99
XF1184	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.10	1.14	0.92	2.69
XF1220	colicin V secretion ABC transporter ATP-binding protein	<i>cvaB</i>	VII.C	0.00	-0.14	0.18	0.81	2.34
XF1243	conserved hypothetical protein	<i>yraM</i>	VIII.A	0.00	-0.10	1.53	0.39	1.19
XF1308	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.71	0.83	0.41	1.22
XF1365	phosphatidylserine decarboxylase	<i>psd</i>	II.E	0.00	0.19	0.41	0.82	1.10
XF1367	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.58	0.83	0.58	1.06
XF1371	aspartate-B-semialdehyde dehydrogenase	<i>asd</i>	II.A.2	0.00	0.45	0.74	1.03	1.23
XF1419	acetyltransferase	<i>lpxD</i>	IV.C	0.00	0.61	0.61	0.73	1.00
XF1420	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.08	0.35	0.95	1.60
XF1439	conserved hypothetical protein	<i>ycfC</i>	VIII.A	0.00	-0.42	0.47	1.17	1.29
XF1450	cell division protein	<i>ftsK</i>	V.B	0.00	0.57	0.80	1.06	1.35
XF1489	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.59	0.92	0.79	1.37
XF1516	surface-exposed outer membrane protein	<i>uspA1</i>	VII.F	0.00	-0.11	0.09	0.26	1.01
XF1542	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.62	0.67	1.28	1.26
XF1562	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.06	0.33	0.45	0.91
XF1591	phage related protein		VI.A	0.00	0.38	0.97	0.31	0.61
XF1593	putative phage related protein		VI.A	0.00	0.02	0.51	0.98	1.77
XF1595	putative phage related protein		VI.A	0.00	0.42	1.26	2.04	2.28
XF1596	predicted transcriptional regulator		I.D	0.00	0.43	1.11	1.91	1.99
XF1597	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.00	0.45	0.82	1.31
XF1598	phage related protein		VI.A	0.00	0.27	0.72	0.89	1.30
XF1614	penicillin binding protein	<i>pbp4</i>	IV.B	0.00	0.63	1.03	0.68	1.15
XF1667	phage related protein		VI.A	0.00	0.20	0.80	1.45	1.42
XF1692	putative phage related protein		VI.A	0.00	0.14	1.04	1.70	2.82
XF1707	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.08	0.11	0.83	1.43
XF1708	putative plasmid maintenance system antidote protein, XRE family		VI.B	0.00	0.00	0.67	1.37	1.89
XF1710	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.22	1.52	1.84	2.49
XF1712	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.26	0.77	1.34	1.52
XF1713	heat shock protein HSP33		III.C	0.00	0.89	0.91	1.90	1.88
XF1749	major facilitator superfamily		V.A	0.00	0.34	0.44	1.10	0.61
XF1752	transcriptional regulator (LysR family)		I.D	0.00	-0.07	0.68	2.15	3.17
XF1757	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.02	0.94	1.58	2.99
XF1770	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.55	0.18	1.12	1.49
XF1828	ATPase		IX	0.00	0.15	0.30	0.85	0.98
XF1860	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.32	0.79	1.44	2.36
XF1894	radical activating enzyme		IX	0.00	0.35	0.10	0.47	0.84
XF1914	anthranilate synthase component I	<i>trpE</i>	II.A.4	0.00	0.32	1.26	-0.23	1.77
XF1920	Trp operon transcriptional repressor	<i>trpR</i>	I.D	0.00	0.27	0.79	0.49	1.29
XF1940	peptide methionine sulfoxide reductase	<i>msrA</i>	III.C.1	0.00	0.40	0.59	1.25	1.35
XF1950	CheW like protein		V.C	0.00	0.13	0.68	0.70	1.23
XF1972	tRNA/rRNA methylase	<i>yibK</i>	III.B.3	0.00	0.27	0.84	1.11	1.81
XF2001	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.15	0.34	0.92	0.87
XF2003	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.43	0.75	1.05	1.01
XF2009	aminopeptidase P	<i>pepP</i>	III.C.3	0.00	0.23	0.52	0.68	0.76
XF2027	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.34	0.84	1.24	1.54
XF2043	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.16	0.52	0.60	1.38
XF2053	conjugal transfer protein	<i>trbE</i>	VI.B	0.00	0.10	0.50	0.43	1.31
XF2062	transcriptional repressor	<i>korC</i>	I.D	0.00	0.31	1.20	1.53	2.38
XF2064	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.30	1.06	1.15	2.43
XF2080	plasmid stabilization system		VI.B	0.00	0.40	0.56	0.73	0.89

Grupo4 (continuação)				M = log ₂ (NaCl/controle)				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XF2086	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.45	1.06	0.59	2.07
XF2110	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.05	0.74	0.93	1.93
XF2111	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.24	1.39	1.74	3.08
XF2112	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.35	0.83	1.71	2.73
XF2122	Zn-finger, CHC2 type		III.A	0.00	-0.58	0.15	2.63	2.87
XF2136	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.45	0.66	1.12	1.24
XF2199	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.23	1.13	1.34	2.28
XF2310	CDP-diaclyglycerol-glycerol-3-phosphate 3-phosphatidyltransferase	<i>pgsA</i>	III.D.2	0.00	0.47	0.75	1.20	1.48
XF2387	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.63	1.04	0.61	1.11
XF2451	conserved hypothetical protein	<i>ypuG</i>	VIII.A	0.00	0.12	0.76	0.98	1.08
XF2467	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.66	0.92	1.27	1.47
XF2468	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.47	0.80	1.08	1.74
XF2479	phage-related protein		VI.A	0.00	0.26	0.50	1.95	1.82
XF2480	phage-related tail protein	<i>gpX</i>	VI.A	0.00	0.16	-0.05	1.21	0.90
XF2481	phage-related tail protein	<i>gpU</i>	VI.A	0.00	0.18	0.43	1.59	1.74
XF2489	phage-related baseplate assembly protein	<i>gpW</i>	VI.A	0.00	0.33	0.42	1.07	1.08
XF2492	phage-related baseplate assembly protein	<i>gpV</i>	VI.A	0.00	0.29	0.67	1.27	2.20
XF2493	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.03	0.38	1.16	2.31
XF2494	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.05	0.32	1.74	2.46
XF2507	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.50	1.01	0.64	1.31
XF2508	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.38	0.90	0.56	1.54
XF2512	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.49	1.07	0.27	1.04
XF2518	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.15	0.30	0.17	1.72
XF2519	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.22	0.39	0.92	2.26
XF2565	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.31	0.19	1.34	1.71
XF2667	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.05	0.43	3.56	1.04
XF2677	L-ascorbate oxidase	<i>aao</i>	I.A.2	0.00	-0.08	0.75	1.27	1.85
XF2698	thioredoxin	<i>trxA</i>	II.D.10	0.00	0.39	0.52	0.23	1.07
XF2728	type I restriction-modification system DNA methylase	<i>hp0850</i>	III.A.5	0.00	0.26	0.25	0.86	0.67
XF2776	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.28	1.40	1.56	2.17
XFa0003	topoisomerase I	<i>topA</i>	III.A.1	0.00	-0.01	1.19	1.23	2.32
XFa0004	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.40	1.12	1.04	2.21
XFa0005	conjugal transfer protein	<i>trbC</i> or <i>virB2</i>	VI.B	0.00	0.15	0.82	-0.15	1.36
XFa0034	conserved hypothetical protein	<i>stmD1.84</i>	VIII.A	0.00	0.48	1.15	2.57	1.71
XFa0047	nickase	<i>taxC</i>	VI.B	0.00	0.01	0.57	1.54	2.43
XFa0048	putative mobilisation protein	<i>mobC</i>	VI.B	0.00	0.01	1.23	2.53	3.63
XFa0055	conserved hypothetical protein	<i>ydiA</i>	VIII.A	0.00	-0.05	0.98	1.57	1.71
XFa0057	transcriptional regulator	<i>korA</i>	I.D	0.00	0.06	1.08	1.26	2.47
XFa0058	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.40	1.11	1.48	2.81
XFa0062	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.05	0.63	1.20	2.52
XFa0063	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.13	1.03	1.00	1.67



Grupo 5

				M = log ₂ (NaCl/controle)				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XF0010	biopolymer transport ExbB protein	<i>exbB</i>	VII.C	0.00	-0.08	-0.51	-0.90	-1.24
XF0012	biopolymer transport ExbD2 protein	<i>exbD2</i>	VII.C	0.00	-0.12	-0.74	-1.04	-1.37
XF0038	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.09	0.04	-1.86	-1.09
XF0060	pyridoxal phosphate biosynthetic protein	<i>pdxJ</i>	II.D.6	0.00	-0.55	-0.87	-1.25	-0.21
XF0083	fimbrial subunit precursor	<i>F17A-A</i>	IV.D	0.00	-0.36	-0.43	-1.04	-0.80
XF0125	carbon storage regulator	<i>csrA</i>	I.D	0.00	0.02	-0.53	-1.62	-1.58
XF0180	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.29	-0.41	-1.50	-2.25
XF0184	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.35	-0.55	-1.22	-1.68
XF0185	band 7 protein/ SPFH domain		V.A.4	0.00	-0.23	-0.28	-0.89	-1.43
XF0204	DNA polymerase III, alpha chain	<i>dnaE</i>	III.A.1	0.00	-0.60	-1.03	-1.45	-1.78
XF0205	phosphoribosylaminoimidazole-succinocarboxamide synthase	<i>purC</i>	II.B.1	0.00	-0.32	-0.44	-0.66	-1.22
XF0224	preprotein translocase YajC subunit		V.A.6	0.00	0.02	-0.26	-0.90	-1.36
XF0274	6-phosphofructokinase		I.C.4	0.00	-0.27	-0.92	-1.64	-2.39

Grupo5 (continuação)		M = log ₂ (NaCl/controle)						
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XF0275	adenylate kinase		II.B.1	0.00	-0.53	-0.67	-1.40	-1.89
XF0287	regulator of pathogenicity factors		VII.H	0.00	-0.30	-0.37	-1.24	-1.21
XF0320	Mg ⁺⁺ /citrate complex transporter		V.A.3	0.00	-0.20	-0.52	-0.59	-1.21
XF0340	disulfide bond formation protein B		IV.A.1	0.00	-0.29	-0.51	-1.40	-1.18
XF0353	translation initiation inhibitor		III.C.1	0.00	-0.10	-0.62	-1.66	-1.84
XF0362	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.04	0.12	-1.00	-1.12
XF0364	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.14	-0.19	-1.13	-0.61
XF0369	fimbrial assembly membrane protein		IV.D	0.00	-0.06	-0.58	-1.10	-1.65
XF0370	fimbrial assembly membrane protein		IV.D	0.00	0.10	-0.09	-1.32	-1.71
XF0371	fimbrial assembly membrane protein		IV.D	0.00	0.50	-0.10	-1.26	-1.76
XF0372	fimbrial assembly protein		IV.D	0.00	0.19	-0.36	-1.00	-1.83
XF0373	fimbrial assembly protein		IV.D	0.00	0.20	-0.06	-0.67	-1.78
XF0381	chaperone	<i>clpB</i>	III.C.2	0.00	-0.61	-0.52	-1.36	-2.43
XF0445	prolyl-tRNA synthetase	<i>proS</i>	III.B.4	0.00	-0.36	-0.52	-1.32	-1.19
XF0446	DNA-binding protein	<i>bbh3</i>	III.A.2	0.00	0.22	-0.07	-1.31	-1.43
XF0452	integral membrane protease	<i>hflK</i>	III.C.3	0.00	-0.08	-0.21	-0.54	-0.97
XF0572	beta-hydroxydecanoyl-ACP dehydratase	<i>fabA</i>	II.E	0.00	-0.46	-0.89	-2.07	-2.10
XF0584	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.38	-0.80	-0.99	-1.09
XF0603	cystathionine beta-synthase	<i>cysB</i>	II.A.3	0.00	-0.26	-0.69	-0.83	-1.12
XF0609	GDP-mannose 4,6 dehydratase	<i>gmd</i>	I.B.11	0.00	-0.21	-0.68	-0.81	-1.54
XF0610	UDP-glucose 4-epimerase	<i>galE</i>	I.A.2	0.00	0.00	-0.36	-0.85	-0.92
XF0611	dTDP-glucose 4-6-dehydratase	<i>rtbB</i>	IV.C	0.00	-0.14	-0.51	-0.71	-1.35
XF0614	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.43	-1.10	-1.45	-1.73
XF0615	60kDa chaperonin	<i>groEL</i>	III.C.2	0.00	-0.16	-0.47	-1.29	-1.77
XF0616	10kDa chaperonin	<i>groES</i>	III.C.2	0.00	-0.15	-0.46	-0.94	-2.11
XF0625	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.48	-0.62	-1.54	-1.49
XF0626	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.27	-0.87	-0.85	-1.25
XF0657	alkaline phosphatase	<i>phoA</i>	I.B.9	0.00	-0.36	-0.60	-0.82	-1.26
XF0749	virulence regulator	<i>xrvA</i>	VII.H	0.00	-0.15	-1.23	-1.07	-0.95
XF0751	ribonuclease D	<i>md</i>	III.B.4	0.00	-0.01	-0.45	-0.55	-1.06
XF0801	cell division protein	<i>ftsA</i>	V.B	0.00	-0.49	-0.60	-0.63	-1.20
XF0816	zinc protease	<i>SC9B10.04</i>	III.C.3	0.00	-0.23	-0.09	-1.08	-1.96
XF0831	cysteine synthase	<i>cysK</i>	II.A.3	0.00	-0.33	-0.28	-0.90	-1.07
XF0832	siroheme synthase	<i>cysG</i>	II.D.12	0.00	-0.26	1.16	-0.32	-0.49
XF0846	beta-mannosidase precursor	<i>TM1624</i>	I.A.2	0.00	-0.63	-1.60	-1.10	-1.97
XF0847	beta-hexosaminidase precursor	<i>nahA</i>	IV.A.2	0.00	-0.84	-0.86	-0.76	-1.61
XF0872	outer membrane protein	<i>ompW</i>	IV.A.2	0.00	0.18	-0.04	-0.74	-1.17
XF0898	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.21	-0.26	-0.61	-1.00
XF0903	conserved hypothetical protein	<i>HI0004</i>	VIII.A	0.00	-0.69	-0.85	-0.37	-0.78
XF0961	bacterioferritin comigratory protein	<i>bcp</i>	IX	0.00	-0.02	-0.01	-0.92	-0.85
XF0974	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.30	-0.61	-1.22	-1.74
XF0975	polyphosphate-selective porin O	<i>oprO</i>	IV.A.2	0.00	-0.08	-0.31	-1.20	-1.19
XF0980	lipopolysaccharide synthesis enzyme	<i>kdtB</i>	IV.C	0.00	-0.10	-0.47	-0.58	-1.01
XF0990	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.12	-0.74	-1.20	-1.85
XF0998	ornithine carbamoyltransferase	<i>argF</i>	II.A.1	0.00	0.16	-0.10	0.17	-0.95
XF0999	argininosuccinate synthase	<i>argG</i>	II.A.1	0.00	-0.22	-0.41	-0.29	-1.18
XF1001	acetylglutamate kinase	<i>argB</i>	II.A.1	0.00	-0.62	-0.96	-0.76	-1.17
XF1002	N-acetyl-gamma-glutamyl-phosphate reductase	<i>af2071</i>	II.A.1	0.00	-0.59	-0.87	-0.52	-1.01
XF1004	glutamate 5-kinase	<i>dr1827</i>	II.A.1	0.00	-0.52	-0.76	-0.61	-1.04
XF1007	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.49	-0.49	-1.74	-1.00
XF1017	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.45	-0.36	-0.84	-0.56
XF1037	adenosylhomocysteinase	<i>ahcY</i>	I.B.10	0.00	-0.58	-0.80	-1.64	-2.04
XF1067	sugar ABC transporter ATP-binding protein	<i>dr2153</i>	V.A.3	0.00	-0.13	-0.44	-1.19	-0.85
XF1102	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.57	-0.86	-1.32	-1.30
XF1124	Maf-like protein		V.B	0.00	-0.42	-0.52	-0.77	-1.01
XF1155	50S ribosomal protein L2	<i>rplB</i>	III.B.2	0.00	0.02	0.11	-1.42	-0.79
XF1157	50S ribosomal protein L22	<i>rplV</i>	III.B.2	0.00	-0.14	-0.38	-1.33	-1.33
XF1158	30S ribosomal protein S3	<i>rpsC</i>	III.B.2	0.00	0.06	-0.26	-0.88	-1.33
XF1164	50S ribosomal protein L5	<i>rplE</i>	III.B.2	0.00	-0.24	-0.61	-0.97	-1.02
XF1206	50S ribosomal protein L28	<i>rplM</i>	III.B.2	0.00	-0.08	-0.31	-0.74	-1.29
XF1207	50S ribosomal protein L33	<i>rplN</i>	III.B.2	0.00	-0.04	-0.37	-0.89	-1.83
XF1210	glutathione S-transferase	<i>gst</i>	VII.C	0.00	-0.07	-0.41	-1.13	-1.18
XF1213	GTP-binding elongation factor protein	<i>typQ</i>	IX	0.00	-0.38	-0.72	-0.86	-1.50
XF1222	ABC transporter permease protein		V.A	0.00	-0.28	-0.71	-3.35	-1.16
XF1226	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.13	-0.22	-1.32	-0.71

Grupo5 (continuação)				M = log ₂ (NaCl/controle)				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XF1262	7,8-dihydro-8-oxoguanine-triphosphatase	<i>mutX</i>	III.A.4	0.00	-0.59	-0.90	-1.32	-1.69
XF1265	Autotransporter beta-domain		IV.A.2	0.00	-0.93	-1.17	-1.58	-2.03
XF1297	gluconolactonase precursor	<i>scf11.04</i>	II.C	0.00	-0.69	-1.09	-1.42	-1.92
XF1321	septum site-determining protein	<i>minD</i>	V.B	0.00	-0.28	-0.35	-0.59	-1.07
XF1339	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.41	-0.76	-0.82	-1.19
XF1382	Ferritin and Dps		IV.A	0.00	0.00	-0.36	-0.83	-1.39
XF1423	phosphoribosylformylglycinamide synthetase	<i>purL or purI</i>	II.B.1	0.00	-0.16	-0.56	-0.31	-0.88
XF1456	2-amino-4-hydroxy-6-hydroxymethylidihydropteridine pyrophosphokinase	<i>folK</i>	II.D.2	0.00	0.02	-0.25	-1.11	-0.90
XF1467	acetyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase subunit beta	<i>accD</i>	II.E	0.00	-0.51	-0.68	-0.66	-1.29
XF1470	UDP-N-acetylglucosamine--N-acetylmuramyl- (pentapeptide) pyrophosphoryl-undecaprenol		IV.B	0.00	-0.32	-1.05	-0.85	-1.10
XF1472	benzene 1,2-dioxygenase, ferredoxin protein	<i>bedB</i>	I.A.2	0.00	-0.80	-0.80	-0.85	-1.24
XF1474	ABC transporter membrane protein	<i>ynhC</i>	V.A.7	0.00	-0.79	-0.87	-1.01	-1.47
XF1475	ABC transporter ATP-binding protein	<i>ynhD</i>	V.A.7	0.00	-0.73	-0.74	-1.29	-1.57
XF1476	ABC transporter membrane protein	<i>srl4004</i>	V.A.7	0.00	-0.69	-0.81	-1.91	-1.74
XF1477	putative transcriptional regulator, Rrf2 family		I.D	0.00	-0.45	-0.58	-1.64	-1.83
XF1480	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.40	-0.45	-0.49	-1.44
XF1484	heat shock protein	<i>hslV</i>	III.C.3	0.00	-0.36	-0.65	-0.85	-1.23
XF1485	heat shock protein	<i>hslU</i>	III.C.3	0.00	-0.23	-0.61	-0.64	-1.47
XF1497	3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate reductase	<i>cysH</i>	I.B.12	0.00	-0.73	-1.31	0.30	-0.27
XF1500	ATP sulfurylase, small subunit	<i>cysD</i>	I.B.12	0.00	-0.78	-1.29	-1.43	-1.69
XF1502	RNA polymerase omega subunit	<i>rpoZ</i>	III.B.5	0.00	-0.09	-0.65	-1.54	-2.40
XF1511	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.17	0.33	-2.01	1.22
XF1517	general secretory pathway protein E	<i>xpsE</i>	VII.H	0.00	-0.52	-1.08	-0.79	-0.79
XF1534	50S ribosomal protein L31	<i>rpmE</i>	III.B.2	0.00	-0.10	-0.43	-1.01	-1.69
XF1535	citrate synthase	<i>gltA</i>	I.C.7	0.00	-0.01	-0.25	-0.33	-1.15
XF1539	S-adenosyl methionine decarboxylase proenzyme	<i>speD</i>	II.F	0.00	-0.23	-0.95	-1.20	-1.18
XF1552	transcription factor jumonji, jmjC		I.D	0.00	-0.10	-0.47	-0.33	-0.89
XF1610	fructokinase		I.A.2	0.00	-0.27	-0.70	-0.57	-1.02
XF1649	conserved hypothetical protein	<i>b2360</i>	VIII.A	0.00	-0.33	-0.31	-1.00	-0.71
XF1650	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.40	-0.44	-1.24	-0.80
XF1693	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.16	0.25	-1.47	-0.92
XF1694	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.15	0.12	-1.20	-1.04
XF1771	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.15	-0.55	-1.53	-1.54
XF1800	putative rhodanese-like protein		I.B.12	0.00	-0.02	-0.36	-0.78	-0.89
XF1811	outer membrane protein Slp precursor	<i>slp</i>	IV.A.2	0.00	-0.23	-0.69	-1.41	-1.27
XF1855	fumarate hydratase	<i>fumB</i>	I.C.7	0.00	-0.47	-0.53	-1.12	-1.25
XF1874	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.34	0.02	-1.00	-0.26
XF1884	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.39	-0.54	-2.22	-2.22
XF1885	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.35	-0.57	-1.46	-0.74
XF1887	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.23	-0.88	-0.68	-1.14
XF1909	A/G-specific adenine glycosylase	<i>mutB</i>	III.A.4	0.00	0.02	-0.90	-0.83	-1.28
XF1956	glutathione synthetase	<i>gshB</i>	II.D.10	0.00	-0.24	-0.76	-0.96	-1.28
XF1996	transcriptional regulator (PbsX family)	<i>c2</i>	I.D	0.00	-0.13	-0.66	-1.11	-1.55
XF2025	DNA primase	<i>traC</i>	III.A.1	0.00	-0.10	-0.32	-1.26	-0.69
XF2082	oxidoreductase	<i>spaC</i>	I.C.3	0.00	-0.17	-0.54	-0.85	-1.33
XF2094	multidrug-efflux transporter	<i>acrF</i>	VII.C	0.00	0.06	-0.92	-1.00	-1.80
XF2118	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.48	-0.57	-1.89	-2.20
XF2141	ABC transporter phosphate binding protein	<i>phoX</i>	V.A.2	0.00	0.24	-0.29	-1.27	-1.26
XF2143	ABC transporter phosphate permease	<i>pstA</i>	V.A.2	0.00	-0.44	-1.10	-1.10	-1.14
XF2144	phosphate ABC transporter ATP-binding protein	<i>pstB</i>	V.A.2	0.00	-0.48	-0.97	-0.81	-1.03
XF2165	transcription-related protein	<i>tex</i>	I.D	0.00	-0.97	-1.35	-1.59	-2.56
XF2174	thioredoxin	<i>ybbN</i>	II.D.10	0.00	-0.30	-0.63	-0.47	-1.22
XF2176	leucyl-tRNA synthetase	<i>leuS</i>	III.B.4	0.00	-0.46	-0.65	-0.59	-1.19
XF2214	cyclase	<i>hisF</i>	II.A.5	0.00	-0.60	-0.47	-2.80	-0.99
XF2222	histidyl-tRNA synthetase	<i>hisS</i>	III.B.4	0.00	-0.47	-1.25	-1.23	-1.91
XF2233	DnaJ protein	<i>dnaJ</i>	III.C.2	0.00	-0.27	-0.59	-0.43	-1.16
XF2234	low molecular weight heat shock protein	<i>hspA</i>	VII.G	0.00	0.02	-0.35	-0.28	-1.40
XF2241	periplasmic protease	<i>mucD</i>	III.C.3	0.00	-0.09	-0.08	-1.32	-1.70
XF2243	GTP binding protein	<i>lepA</i>	IX	0.00	-0.30	-0.62	-0.99	-1.36
XF2244	signal peptidase I	<i>lepB</i>	III.C.1	0.00	-0.30	-0.55	-1.33	-1.68
XF2245	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.15	-0.65	-1.23	-1.56
XF2246	ribonuclease III	<i>mrc</i>	III.B.6	0.00	-0.06	-0.46	-0.53	-1.30
XF2252	predicted membrane protein		IV.A.1	0.00	-0.84	-1.08	-2.72	-1.05

Grupo5 (continuação)				M = log ₂ (NaCl/control)				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XF2255	acetyl coenzyme A synthetase	<i>acs</i>	I.B.10	0.00	-0.86	-0.77	-0.29	0.25
XF2266	glycerol-3-phosphate dehydrogenase	<i>glpD</i>	I.C.1	0.00	-0.31	-0.87	-0.99	-1.45
			I.B (4 ou					
XF2305	Glyoxalase/bleomycin resistance protein/dioxygenase		10?)	0.00	0.41	0.20	-1.09	-0.53
XF2339	DnaJ protein	<i>dnaJ</i>	III.C.2	0.00	-0.25	-0.56	-1.18	-2.01
XF2340	DnaK protein	<i>dnaK</i>	III.C.2	0.00	-0.34	-0.58	-1.08	-2.68
XF2341	heat shock protein GrpE	<i>grpE</i>	III.C.2	0.00	-0.49	-0.79	-1.50	-3.18
XF2345	outer membrane protein	<i>smpA</i>	IV.A.2	0.00	-0.20	-0.47	-1.72	-1.54
XF2409	DNA helicase		III.A	0.00	0.08	0.01	-1.63	-2.08
XF2421	30S ribosomal protein S20	<i>rpsT</i>	III.B.2	0.00	0.64	0.17	-0.91	-1.50
XF2423	50S ribosomal protein L27	<i>rpmA</i>	III.B.2	0.00	-0.14	-0.42	-1.15	-1.66
XF2424	50S ribosomal protein L21	<i>rplU</i>	III.B.2	0.00	-0.10	-0.83	-1.84	-2.32
XF2544	pilus biogenesis protein	<i>pilB</i>	IV.D	0.00	-0.42	-0.51	-1.18	-1.49
XF2560	30S ribosomal protein S18	<i>rpsR</i>	III.B.2	0.00	0.07	-0.46	-1.01	-1.44
XF2561	30S ribosomal protein S6	<i>rpsF</i>	III.B.2	0.00	-0.14	-0.71	-1.24	-1.93
XF2569	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.08	-0.76	-0.75	-1.05
XF2585	protein-L-isoaspartate O-methyltransferase	<i>pcm</i>	III.C.1	0.00	-0.22	-0.62	-1.18	-1.32
XF2586	outer membrane export factor	<i>tolC</i>	VII.C	0.00	-0.07	-0.41	-1.18	-1.31
XF2587	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.20	-0.48	-1.14	-1.01
XF2638	transcription antitermination factor	<i>nusG</i>	III.B.5	0.00	0.03	-0.13	-0.97	-1.06
XF2655	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.44	-0.68	-0.96	-1.64
XF2656	N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase, family 2		IV.B	0.00	-0.61	-0.85	-1.28	-2.05
XF2731	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.45	-0.82	-0.72	-1.00
XF2747	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.36	-0.92	-0.48	-1.73
XF2777	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.35	-1.01	-3.59	-4.74
XF2778	thiophene and furan oxidation protein	<i>thdF</i>	VII.C	0.00	-0.49	-1.83	-0.98	-1.25

Tabela S9: Genes induzidos na presença de sacarose. Os genes estão organizados de acordo com a categoria funcional definida por Simpson *et al*, 2000. M = log da razão da intensidade de fluorescência no choque osmótico em relação à condição controle. Os valores em negrito correspondem aos valores de M considerados induzidos.

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	M = log ₂ (sacarose/controlo)			
					7 min	15 min	30 min	60 min
XF0846	beta-mannosidase precursor	<i>TM1624</i>	I.A.2		-0.27	-0.11	-0.86	1.05
XF2390	putative oxidoreductase protein		I.C	X	1.22	2.12	1.80	0.09
XF0323	two-component system, sensor protein		I.D		1.97	3.08	1.23	2.63
XF0390	two-component system, sensor protein		I.D		0.51	1.37	1.71	1.40
XF2062	transcriptional repressor	<i>korC</i>	I.D		0.03	0.67	1.04	0.99
XF2071	predicted transcriptional regulator		I.D	X	0.53	1.09	0.30	-0.06
XF2085	transcriptional regulator (AcrR family)	<i>SC130A</i>	I.D		-0.01	0.42	1.35	2.28
XF2715	transcriptional regulator (TetR family)		I.D	X	-0.02	-0.18	1.33	1.53
XFa0046	predicted transcriptional regulator		I.D	X	-0.11	-0.44	0.99	0.96
XF1141	chorismate mutase	<i>nc30</i>	II.A.4		-0.05	-0.26	0.87	1.43
XF1914	anthranilate synthase component I	<i>trpE</i>	II.A.4		0.63	1.69	1.24	2.23
XF1915	anthranilate synthase component II	<i>trpG</i>	II.A.4		2.83	3.66	0.15	-0.16
XF2439	cytidylate kinase	<i>cmkA</i>	II.B.2		0.79	1.62	0.49	0.03
XF1397	2-polyprenyl-3-methyl-5-hydroxy-6-metoxy-1,4-benzoquinol methylase / ubiG		II.D.11	X	0.57	1.08	0.91	1.15
XF1916	coenzyme F390 synthetase	<i>af1671</i>	II.D.17		0.70	1.88	1.81	2.32
XF0953	GTP cyclohydrolase II/3,4-dihydroxy-2-butanone 4-phosphate synthase	<i>ribA</i>	II.D.9		1.94	2.40	-0.01	-0.16
XF0670	malonyl CoA-ACP transacylase	<i>fabD</i>	II.E		0.49	1.20	-0.15	0.43
XF0811	predicted methyltransferase		III.	X	0.99	1.32	1.33	1.14
XF2122	Zn-finger, CHC2 type		III.A	X	-0.31	-1.38	1.51	2.50
XFa0003	topoisomerase I	<i>topA</i>	III.A.1		0.10	0.53	1.04	1.78
XFa0019	site-specific recombinase	<i>rin</i>	III.A.3		0.13	0.63	1.38	1.19
XF1904	holliday junction binding protein, DNA helicase	<i>ruvA</i>	III.A.4		0.07	0.76	1.10	0.51
XF1804	site-specific DNA-methyltransferase	<i>sph1M</i>	III.A.5		1.01	1.29	0.92	0.85
XF0169	tyrosyl-tRNA synthetase	<i>tyrS</i>	III.B.4		0.34	1.26	0.64	0.40
XF2781	ribonuclease P	<i>mpA</i>	III.B.4		0.75	1.27	0.28	-0.25
XF0234	N utilization substance protein A		III.B.5		-0.02	0.24	1.27	0.61
XF2257	predicted membrane protein	<i>yebN</i>	IV.A.1	X	0.30	2.45	1.83	2.21
XF2392	autolytic lysozyme	<i>lyc</i>	IV.A.2		0.01	0.30	1.07	1.16
XF0654	putative NPL/P60		IV.A.2	X	0.09	0.27	1.07	0.28
XF0778	O-antigen acetylase	<i>oafA</i>	IV.C		0.47	0.83	1.36	0.89
XF0966	type 4 fibrinogen biogenesis protein		IV.D	X	0.35	0.93	0.88	0.24
XF0765	YeeE/YedE integral membrane protein		IX	X	-0.04	-0.02	0.51	1.67
XF0766	YeeE/YedE integral membrane protein		IX	X	0.04	0.17	1.31	1.73
XF1021	acyl-CoA thioesterase II	<i>tesB</i>	IX	X	-0.14	0.20	1.01	1.46
XF1919	iron-sulfur flavoprotein		IX	X	-1.16	0.68	2.05	1.06
XF0324	periplasmic iron-binding protein		V.A.4		0.62	1.11	0.82	0.15
XF0500	phage-related repressor protein	<i>racR</i>	VI.A		-0.19	-0.26	1.14	1.27
XF0680	phage-related protein		VI.A		0.41	-0.28	0.59	2.31
XF0705	phage-related protein		VI.A		0.72	1.39	-0.26	-0.07
XF1587	putative phage related protein		VI.A	X	0.82	1.65	1.15	0.13
XF1591	phage related protein		VI.A	X	-0.09	-0.09	0.75	1.16
XF1594	putative phage related protein		VI.A	X	0.86	1.60	2.14	2.83
XF1700	phage related protein		VI.A	X	0.43	1.24	1.08	1.58
XF1705	phage related protein		VI.A	X	1.36	2.54	1.11	2.08
XF1718	phage-related integrase	<i>int</i>	VI.A		0.73	0.95	-0.62	0.15
XF2114	phage related protein		VI.A	X	0.25	1.97	0.55	0.34
XF2501	phage-related protein	<i>nohA</i>	VI.A		-0.27	-0.53	0.54	1.04
XF2762	phage related protein		VI.A	X	1.05	1.32	1.79	0.01
XF2765	phage related protein		VI.A	X	0.06	0.39	1.18	1.70
XF1589	plasmid stabilization protein	<i>y4jK</i>	VI.B		0.23	0.75	1.09	1.47
XF1590	plasmid stabilization protein	<i>y4jJ</i>	VI.B		0.33	0.61	1.06	1.27
XF1708	putative plasmid maintenance system antidote protein, XRE family		VI.B	X	0.10	0.27	1.38	1.63
XF1709	plasmid maintenance system killer		VI.B	X	0.03	0.01	1.42	1.63
XF2053	conjugal transfer protein	<i>trbE</i>	VI.B		0.27	0.82	0.88	1.31
XF2066	plasmid stabilization system protein	<i>yacB</i>	VI.B	X	0.10	1.14	1.76	1.86
XF2079	conjugal transfer protein		VI.B	X	0.75	1.24	1.15	1.42
XFa0002	conjugal transfer protein	<i>virB1</i>	VI.B		0.58	1.55	2.10	2.16
XFa0005	conjugal transfer protein	<i>virB2</i>	VI.B		-0.06	-0.06	0.28	1.45
XFa0027	plasmid maintenance protein	<i>pemK</i>	VI.B		0.15	0.49	0.87	1.04
XFa0036	conjugal transfer protein	<i>trbN</i>	VI.B		0.88	1.96	2.88	2.26

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	M = log ₂ (sacarose/controle)			
					7 min	15 min	30 min	60 min
XFa0037	conjugal transfer protein	<i>trbL</i>	VI.B		0.37	1.28	-0.01	2.12
XFa0041	conjugal transfer protein	<i>trbH</i>	VI.B		0.11	-0.30	0.35	0.98
XFa0044	conjugal transfer protein	<i>trbE</i>	VI.B		0.04	0.37	0.68	1.28
XFa0047	nickase	<i>taxC</i>	VI.B		0.09	0.53	1.21	0.84
XFa0048	putative mobilisation protein	<i>mobC</i>	VI.B	X	0.08	0.17	2.35	1.28
XFa0050	stability partitioning determinant	<i>stbB</i>	VI.B	X	0.19	1.09	2.31	1.92
XFa0059	plasmid replication/partition protein	<i>spoOJ</i>	VI.B		-0.38	-0.23	2.20	1.80
XFa0060	plasmid replication protein	<i>incC</i>	VI.B		-0.14	0.39	2.52	1.19
XF1931	transposase	<i>tnpA</i>	VI.C		0.23	-0.35	0.51	0.97
XF2063	DNA-invertase	<i>rin</i>	VI.C		0.28	0.99	1.12	1.05
XF0263	colicin V precursor		VII.C		-0.05	0.03	0.90	0.67
XF0300	acriflavin resistance protein		VII.C	X	1.30	0.92	-0.34	-0.21
XF0768	Beta-lactamase-like		VII.C	X	0.10	0.35	1.42	2.18
XF1220	colicin V secretion ABC transporter ATP-binding protein	<i>cvaB</i>	VII.C		-0.04	1.17	1.35	0.89
XF1361	Beta-lactamase-like		VII.C	X	0.09	0.67	1.16	0.92
XF1531	subunit F of alkyl hydroperoxide reductase	<i>ahpF</i>	VII.C		-0.04	0.18	1.18	0.62
XF2407	bacteriocin		VII.C		0.02	0.68	1.31	2.11
XF2775	hemagglutinin-like secreted protein	<i>pspA</i>	VII.F		0.86	1.25	-0.45	-1.09
XF1493	virulence regulator	<i>xrvA</i>	VII.H		-0.28	0.34	1.53	0.82
XFa0052	virulence-associated protein D	<i>vapD</i>	VII.H		0.19	0.80	1.97	1.62
XF0154	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.01	2.52	0.76	0.83
XF0155	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.64	1.77	0.39	0.18
XF0250	conserved hypothetical protein		VIII.A		1.68	1.93	0.24	0.15
XF0338	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.76	1.16	0.73	0.22
XF0488	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.00	-0.76	0.43	0.91
XF0490	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.58	-0.19	0.49	1.11
XF0493	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.12	0.89	1.99	1.86
XF0501	conserved hypothetical protein	<i>ydaS</i>	VIII.A		-0.13	0.16	1.12	1.41
XF0507	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.32	-0.21	0.82	1.34
XF0529	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.63	2.34	0.98	1.32
XF0531	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.07	1.82	0.95	0.94
XF0533	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.04	0.10	1.07	0.88
XF0534	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.67	1.46	1.49	1.17
XF0663	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.25	2.12	0.50	0.89
XF0666	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.14	1.21	0.33	0.36
XF0667	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.13	2.32	-0.56	-0.25
XF0786	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.00	0.62	2.76	-0.59
XF0787	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.27	2.49	0.74	1.32
XF0870	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.25	0.53	0.77	1.09
XF0989	conserved hypothetical protein	<i>yidD</i>	VIII.A		-0.20	-0.27	0.79	1.13
XF1185	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.04	1.34	1.94	1.56
XF1249	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.55	1.70	0.99	1.27
XF1513	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.34	1.50	1.74	1.47
XF1528	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.85	2.96	1.23	-0.68
XF1557	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.53	0.81	-0.05	0.02
XF1661	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.24	0.32	0.93	1.05
XF1707	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.03	-0.13	1.02	1.08
XF1756	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.12	1.46	1.30	1.22
XF1780	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.05	0.23	0.89	1.45
XF1798	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.55	1.18	0.75	0.81
XF1814	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.30	0.92	0.92	1.14
XF1860	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.08	0.27	1.42	1.25
XF1868	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.31	1.03	0.09	0.35
XF1877	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.45	2.20	1.94	2.01
XF1917	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.89	2.41	1.12	1.55
XF1918	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.76	1.97	1.71	1.70
XF1973	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.64	3.72	1.14	0.43
XF2037	conserved hypothetical protein	<i>bioF2</i>	VIII.A		0.65	1.70	0.54	0.62
XF2067	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.16	0.67	1.43	0.99
XF2068	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.05	0.65	1.39	1.04
XF2111	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.61	1.49	1.65	1.54
XF2112	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.43	1.32	1.26	1.27
XF2113	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.06	0.92	0.89	0.73
XF2187	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.59	0.80	0.79	1.09
XF2191	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.00	0.00	2.02	2.40
XF2195	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.80	2.01	-0.11	-0.28
XF2197	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.20	1.58	1.97	2.32

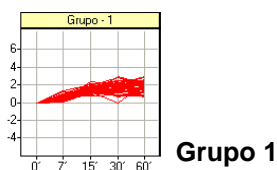
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	M = log ₂ (sacarose/controle)			
					7 min	15 min	30 min	60 min
XF2198	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.29	1.06	1.82	2.29
XF2258	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.36	2.41	2.07	1.52
XF2307	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.98	2.03	1.14	1.16
XF2321	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.37	1.26	2.39	0.49
XF2323	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.00	0.00	1.68	2.15
XF2382	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.19	1.06	2.93	2.10
XF2402	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.34	1.08	1.45	1.78
XF2404	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.68	1.03	1.56	2.42
XF2405	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.61	1.92	1.17	1.86
XF2406	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.34	0.99	1.81	2.55
XF2451	conserved hypothetical protein	<i>ypuG</i>	VIII.A		0.09	0.31	1.38	2.04
XF2514	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.21	1.32	1.50	2.23
XF2515	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.64	0.91	0.86	0.77
XF2518	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.57	0.43	1.57	2.01
XF2519	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.00	0.09	1.78	2.55
XF2718	conserved hypothetical protein		VIII.A		0.86	0.18	1.27	1.76
XF2753	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.42	-0.40	1.31	-0.08
XF2770	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.00	1.93	3.99	0.42
XFa0020	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.03	0.44	2.13	2.25
XFa0023	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.21	0.78	2.35	2.31
XFa0024	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.08	1.27	2.20	1.28
XFa0028	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.16	0.78	1.71	1.34
XFa0035	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.24	0.67	1.39	1.50
XFa0045	conserved hypothetical protein		VIII.A		-0.06	-0.08	1.50	1.23
XFa0054	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.46	1.43	2.50	2.52
XFa0055	conserved hypothetical protein	<i>ydiA</i>	VIII.A		-0.13	0.10	1.12	1.32
XFa0062	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.17	0.41	0.93	1.05
XFa0064	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	1.77	2.72	2.05	2.87
XF0112	hypothetical protein		VIII.B		1.23	1.11	0.44	1.01
XF0195	hypothetical protein		VIII.B		0.71	0.99	1.65	2.44
XF0337	hypothetical protein		VIII.B		1.67	2.53	1.37	0.00
XF0391	hypothetical protein		VIII.B		0.99	2.20	1.92	1.40
XF0746	hypothetical protein		VIII.B		0.88	0.93	0.13	0.24
XF0808	hypothetical protein		VIII.B		1.78	1.72	0.88	0.40
XF1032	hypothetical protein		VIII.B		0.82	1.08	1.60	1.46
XF1393	hypothetical protein		VIII.B		2.58	3.03	1.10	0.06
XF1396	hypothetical protein		VIII.B		0.65	1.83	2.16	3.00
XF1491	hypothetical protein		VIII.B		0.00	0.76	1.59	1.62
XF1546	hypothetical protein		VIII.B		-0.07	-0.93	0.90	0.71
XF1634	hypothetical protein		VIII.B		0.31	0.35	1.04	1.38
XF1767	hypothetical protein		VIII.B		-0.03	0.09	0.39	0.84
XF1938	hypothetical protein		VIII.B		0.83	0.79	0.87	1.27
XF1974	hypothetical protein		VIII.B		1.66	2.11	2.03	2.14
XF1977	hypothetical protein		VIII.B		0.61	1.71	0.67	1.29
XF1991	hypothetical protein		VIII.B		0.14	0.33	0.45	1.75
XF2034	hypothetical protein		VIII.B		0.57	0.90	0.14	0.38
XF2064	hypothetical protein		VIII.B		0.08	0.38	0.85	1.05
XF2065	hypothetical protein		VIII.B		0.20	0.75	1.03	1.05
XF2078	hypothetical protein		VIII.B		1.32	2.02	2.44	1.89
XF2110	hypothetical protein		VIII.B		-0.19	0.48	1.12	1.51
XF2717	hypothetical protein		VIII.B		0.32	-0.12	0.43	1.41
XFa0004	hypothetical protein		VIII.B		0.20	0.37	0.94	1.44
XFa0021	hypothetical protein		VIII.B		-0.05	0.70	2.54	3.18
XFa0030	hypothetical protein		VIII.B		0.67	1.39	1.23	1.51
XFa0031	hypothetical protein		VIII.B		0.99	1.44	1.10	1.49
XFa0049	hypothetical protein		VIII.B		0.43	1.47	2.88	1.91
XFa0051	hypothetical protein		VIII.B		0.27	1.15	2.02	2.13
XFa0053	hypothetical protein		VIII.B		-0.02	0.64	2.32	1.83
XFb0002	hypothetical protein		VIII.B		0.83	1.85	2.52	2.37

Tabela S10: Genes reprimidos na presença de sacarose. Os genes estão organizados de acordo com a categoria funcional definida por Simpson *et al*, 2000. $M = \log$ da razão da intensidade de fluorescência no choque osmótico em relação à condição controle. Os valores em negrito correspondem aos valores de M considerados reprimidos.

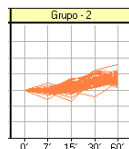
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	M = \log_2 (sacarose/controle)			
					7 min	15 min	30 min	60 min
XF1037	adenosylhomocysteinase	<i>ahcY</i>	I.B.10		-0.90	-1.07	-0.64	-1.05
XF1385	glycine decarboxylase	<i>gcvP</i>	I.B.10		-0.31	-0.48	-0.71	-0.77
XF2591	polyphosphate kinase	<i>ppk</i>	I.B.9		-0.03	0.26	-0.68	-1.12
XF0309	NADH-ubiquinone oxidoreductase, NQO2 subunit		I.C.1		-1.22	-0.40	1.00	-0.23
XF0274	6-phosphofructokinase		I.C.4		-0.13	-0.16	-1.28	-1.52
XF0826	fructose-bisphosphate aldolase		I.C.4		-0.06	-0.40	-1.93	-2.42
XF0061	transcriptional repressor	<i>korB</i>	I.D		-1.78	-0.38	1.22	0.72
XF0125	carbon storage regulator	<i>csrA</i>	I.D		-0.14	-0.40	-0.61	-1.12
XF0911	stringent starvation protein A	<i>sspA</i>	I.D		-0.09	0.20	-0.51	-0.97
XF1241	aconitate hydratase 1	<i>acnA</i>	I.D		-0.60	-0.47	-1.11	-1.32
XF1721	putative transcriptional regulator (LysR family)		I.D	X	-0.60	-1.00	-0.80	0.30
XF0603	cystathionine beta-synthase	<i>cysB</i>	II.A.3		-0.06	-0.26	-0.38	-0.99
XF0275	adenylate kinase		II.B.1		-0.28	-0.01	-1.13	-1.52
XF0356	cytochrome P-450 hydroxylase		II.D.1		-1.17	-1.55	0.39	-0.48
XF1487	ubiquinone/menaquinone transferase	<i>ubiE</i>	II.D.11		-0.01	-0.12	-0.56	-0.89
XF0017	coproporphyrinogen III oxidase, aerobic	<i>hemF</i>	II.D.12		-0.28	-0.42	-1.02	-1.21
XF0832	siroheme synthase	<i>cysG</i>	II.D.12		-0.74	-0.18	-1.28	0.32
XF2409	DNA helicase		III.A	X	-1.33	-1.75	-0.50	-0.68
XF1776	DNA topoisomerase III	<i>topB</i>	III.A.1		-2.25	-0.99	-1.62	-1.35
XF1262	7,8-dihydro-8-oxoguanine-triphosphatase	<i>mutX</i>	III.A.4		-0.16	-0.40	-1.15	-1.53
XF1368	adenine-specific methylase	<i>hl1201</i>	III.A.5		-0.14	-0.16	-1.19	-1.40
XF2742	type I restriction-modification system DNA methylase	<i>hsdM</i>	III.A.5		-0.15	-0.12	-1.53	-1.90
XF2651	putative RNA methylase		III.B	X	-0.11	-0.24	-1.05	-0.63
XF0107	30S ribosomal protein S16	<i>rpsP</i>	III.B.2		0.09	0.01	-1.12	-1.44
XF1164	50S ribosomal protein L5	<i>rplE</i>	III.B.2		-0.31	-0.54	-1.03	-0.77
XF1206	50S ribosomal protein L28	<i>rpmB</i>	III.B.2		-0.17	-0.29	-0.45	-1.28
XF1207	50S ribosomal protein L33	<i>rpmG</i>	III.B.2		-0.19	-0.45	-0.64	-1.76
XF2423	50S ribosomal protein L27	<i>rpmA</i>	III.B.2		-0.12	-0.11	-1.19	-1.47
XF2424	50S ribosomal protein L21	<i>rplU</i>	III.B.2		-0.17	-0.56	-1.53	-1.44
XF2580	30S ribosomal protein S2	<i>rpsB</i>	III.B.2		0.02	0.26	-0.48	-1.33
XF2222	histidyl-tRNA synthetase	<i>hisS</i>	III.B.4		-0.27	-0.18	-1.27	-1.66
XF1502	RNA polymerase omega subunit	<i>rpoZ</i>	III.B.5		0.07	-0.06	-0.99	-1.03
XF0353	translation initiation inhibitor		III.C.1		-0.13	-0.04	-1.48	-1.69
XF0381	chaperone	<i>clpB</i>	III.C.2	X	-0.06	-0.26	-1.94	-1.97
XF0615	60kDa chaperonin	<i>groEL</i>	III.C.2		0.44	0.07	-1.64	-2.17
XF0616	10kDa chaperonin	<i>groES</i>	III.C.2		0.19	-0.22	-2.50	-3.16
XF0991	DnaK supressor	<i>RP816</i>	III.C.2		0.12	-0.02	-1.23	-1.80
XF2233	DnaJ protein	<i>dnaJ</i>	III.C.2		-0.11	0.00	-1.05	-1.69
XF2339	DnaJ protein	<i>dnaJ</i>	III.C.2		0.00	-0.11	-1.74	-2.53
XF2340	DnaK protein	<i>dnaK</i>	III.C.2		0.04	-0.06	-2.07	-2.53
XF2341	heat shock protein GrpE	<i>grpE</i>	III.C.2		0.02	-0.29	-2.65	-2.95
XF0452	integral membrane protease	<i>hflK</i>	III.C.3		-0.03	0.19	-0.67	-1.17
XF1485	heat shock protein	<i>hslU</i>	III.C.3		0.05	-0.33	-0.97	-1.50
XF2241	periplasmic protease	<i>mucD</i>	III.C.3		-0.11	0.22	-1.40	-0.55
XF2252	predicted membrane protein		IV.A.1	X	-0.50	-0.94	0.12	0.21
XF0975	polyphosphate-selective porin O	<i>oprO</i>	IV.A.2		-0.07	0.01	-1.75	-1.61
XF0276	UDP-N-acetylmuramate-L-alanine ligase		IV.B		-0.24	-0.19	-0.89	-0.89
XF2542	fimbrial protein		IV.D		0.15	0.52	-2.94	-3.89
XF2141	ABC transporter phosphate binding protein	<i>phoX</i>	V.A.2		0.08	0.06	-2.05	-1.86
XF0527	phage related protein		VI.A	X	-0.68	0.04	-0.27	-1.00
XF1679	plasmid-related protein	<i>traN</i>	VI.B		0.04	-0.43	-1.02	-1.29
XF1775	reverse transcriptase	<i>IS629</i>	VI.C		-1.59	-3.09	0.53	-1.06
XF0010	biopolymer transport ExbB protein	<i>exbB</i>	VII.C		0.14	-0.11	-0.94	-1.24
XF0011	biopolymer transport ExbD1 protein	<i>exbD1</i>	VII.C		0.02	-0.08	-0.75	-1.16
XF0012	biopolymer transport ExbD2 protein	<i>exbD2</i>	VII.C		0.08	-0.26	-0.88	-1.54
XF1038	peptide synthase	<i>St3F7.11</i>	VII.C		-2.47	0.14	1.52	-0.52

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	reanotada	M = log ₂ (sacarose/controlo)			
					7 min	15 min	30 min	60 min
XF1210	glutathione S-transferase	<i>gst</i>	VII.C		-0.06	-0.12	-0.98	-1.28
XF2234	low molecular weight heat shock protein	<i>hspA</i>	VII.G		-0.12	-0.28	-0.95	-2.05
XF0362	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.14	-0.34	-0.75	-0.85
XF0463	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-1.37	-0.30	-2.39	-1.15
XF0515	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.39	-1.21	-0.10	1.07
XF0614	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	0.02	-0.27	-1.06	-1.76
XF1024	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.04	-0.31	-1.58	-2.51
XF1069	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.16	-0.05	-0.62	-0.81
XF1074	conserved hypothetical protein	<i>ygfY</i>	VIII.A		0.19	0.46	-0.61	-1.88
XF1117	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.09	-0.21	-0.24	-0.85
XF1205	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.18	-0.33	-0.61	-1.15
XF1287	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.02	-0.06	0.41	-1.10
XF1764	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-2.20	-0.83	0.24	2.53
XF1779	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-1.92	0.00	1.43	-0.12
XF1783	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.36	-0.93	-1.77	-1.24
XF2118	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.50	-0.55	-1.40	-0.05
XF2400	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.28	0.39	-0.96	-1.42
XF2587	conserved hypothetical protein		VIII.A	X	-0.06	-0.23	-1.38	-1.32
XF0266	hypothetical protein		VIII.B		-0.19	0.00	-1.10	-0.24
XF0426	hypothetical protein		VIII.B		-0.16	-0.24	-1.22	-1.36
XF0990	hypothetical protein		VIII.B		0.18	-0.33	-1.54	-1.99
XF1256	hypothetical protein		VIII.B		-0.17	-0.67	-0.69	-0.95
XF2543	hypothetical protein		VIII.B		-0.15	-0.34	-1.00	-0.89

Tabela S11: Agrupamento dos genes diferencialmente expressos na presença de sacarose utilizando o algoritmo *K-means* com 5 grupos. $M = \log$ da razão da intensidade de fluorescência no choque osmótico em relação à condição controle.



Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	$M = \log_2(\text{sacarose}/\text{controle})$				
				0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XF0195	hypothetical protein		VIII.B	0	0.71	0.99	1.65	2.44
XF0390	two-component system, sensor protein		I.D	0	0.51	1.37	1.71	1.40
XF0391	hypothetical protein		VIII.B	0	0.99	2.20	1.92	1.40
XF0534	conserved hypothetical protein		VIII.A	0	0.67	1.46	1.49	1.17
XF0778	O-antigen acetylase	<i>oafA</i>	IV.C	0	0.47	0.83	1.36	0.89
XF0811	predicted methyltransferase		III.	0	0.99	1.32	1.33	1.14
XF1032	hypothetical protein		VIII.B	0	0.82	1.08	1.60	1.46
XF1396	hypothetical protein		VIII.B	0	0.65	1.83	2.16	3.00
XF1397	2-polyprenyl-3-methyl-5-hydroxy-6-metoxo-1,4-benzoquinol methylase / ubiG		II.D.11	0	0.57	1.08	0.91	1.15
XF1513	conserved hypothetical protein		VIII.A	0	0.34	1.50	1.74	1.47
XF1594	putative phage related protein		VI.A	0	0.86	1.60	2.14	2.83
XF1700	phage related protein		VI.A	0	0.43	1.24	1.08	1.58
XF1798	conserved hypothetical protein		VIII.A	0	0.55	1.18	0.75	0.81
XF1804	site-specific DNA-methyltransferase	<i>sphIM</i>	III.A.5	0	1.01	1.29	0.92	0.85
XF1877	conserved hypothetical protein		VIII.A	0	0.45	2.20	1.94	2.01
XF1914	anthranilate synthase component I	<i>trpE</i>	II.A.4	0	0.63	1.69	1.24	2.23
XF1916	coenzyme F390 synthetase	<i>af1671</i>	II.D.17	0	0.70	1.88	1.81	2.32
XF1918	conserved hypothetical protein		VIII.A	0	0.76	1.97	1.71	1.70
XF1938	hypothetical protein		VIII.B	0	0.83	0.79	0.87	1.27
XF1977	hypothetical protein		VIII.B	0	0.61	1.71	0.67	1.29
XF2066	plasmid stabilization system protein	<i>yacB</i>	VI.B	0	0.10	1.14	1.76	1.86
XF2078	hypothetical protein		VIII.B	0	1.32	2.02	2.44	1.89
XF2079	conjugal transfer protein		VI.B	0	0.75	1.24	1.15	1.42
XF2111	conserved hypothetical protein		VIII.A	0	0.61	1.49	1.65	1.54
XF2112	conserved hypothetical protein		VIII.A	0	0.43	1.32	1.26	1.27
XF2197	conserved hypothetical protein		VIII.A	0	0.20	1.58	1.97	2.32
XF2198	conserved hypothetical protein		VIII.A	0	0.29	1.06	1.82	2.29
XF2258	conserved hypothetical protein		VIII.A	0	0.36	2.41	2.07	1.52
XF2321	conserved hypothetical protein		VIII.A	0	0.37	1.26	2.39	0.49
XF2382	conserved hypothetical protein		VIII.A	0	1.19	1.06	2.93	2.10
XF2402	conserved hypothetical protein		VIII.A	0	0.34	1.08	1.45	1.78
XF2404	conserved hypothetical protein		VIII.A	0	0.68	1.03	1.56	2.42
XF2405	conserved hypothetical protein		VIII.A	0	0.61	1.92	1.17	1.86
XF2406	conserved hypothetical protein		VIII.A	0	0.34	0.99	1.81	2.55
XF2514	conserved hypothetical protein		VIII.A	0	0.21	1.32	1.50	2.23
XFa0002	conjugal transfer protein	<i>virB1</i>	VI.B	0	0.58	1.55	2.10	2.16
XFa0030	hypothetical protein		VIII.B	0	0.67	1.39	1.23	1.51
XFa0031	hypothetical protein		VIII.B	0	0.99	1.44	1.10	1.49
XFa0036	conjugal transfer protein	<i>trbN</i>	VI.B	0	0.88	1.96	2.88	2.26
XFa0037	conjugal transfer protein	<i>trbL</i>	VI.B	0	0.37	1.28	-0.01	2.12
XFa0049	hypothetical protein		VIII.B	0	0.43	1.47	2.88	1.91
XFa0050	stability partitioning determinant	<i>stbB</i>	VI.B	0	0.19	1.09	2.31	1.92
XFa0051	hypothetical protein		VIII.B	0	0.27	1.15	2.02	2.13
XFa0054	conserved hypothetical protein		VIII.A	0	0.46	1.43	2.50	2.52
XFb0002	hypothetical protein		VIII.B	0	0.83	1.85	2.52	2.37

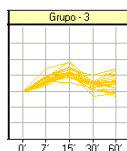


Grupo 2

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	M = log ₂ (sacarose/controlo)				
				0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XF0234	N utilization substance protein A		III.B.5	0.00	-0.02	0.24	1.27	0.61
XF0263	colicin V precursor			0.00	-0.05	0.03	0.90	0.67
XF0490	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.58	-0.19	0.49	1.11
XF0493	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.12	0.89	1.99	1.86
XF0500	phage-related repressor protein	<i>racR</i>	VI.A	0.00	-0.19	-0.26	1.14	1.27
XF0507	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.32	-0.21	0.82	1.34
XF0533	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.04	0.10	1.07	0.88
XF0654	putative NPL/P60		IV.A.2	0.00	0.09	0.27	1.07	0.28
XF0765	YeeE/YedE integral membrane protein		IX	0.00	-0.04	-0.02	0.51	1.67
XF0766	YeeE/YedE integral membrane protein		IX	0.00	0.04	0.17	1.31	1.73
XF0768	Beta-lactamase-like		VII.C	0.00	0.10	0.35	1.42	2.18
XF0846	beta-mannosidase precursor	<i>TM1624</i>	I.A.2	0.00	-0.27	-0.11	-0.86	1.05
XF0870	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.25	0.53	0.77	1.09
XF0989	conserved hypothetical protein	<i>yidD</i>	VIII.A	0.00	-0.20	-0.27	0.79	1.13
XF1021	acyl-CoA thioesterase II	<i>tesB</i>	IX	0.00	-0.14	0.20	1.01	1.46
XF1141	chorismate mutase	<i>nc30</i>	II.A.4	0.00	-0.05	-0.26	0.87	1.43
XF1185	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.04	1.34	1.94	1.56
XF1220	colicin V secretion ABC transporter ATP-binding protein	<i>cvaB</i>	VII.C	0.00	-0.04	1.17	1.35	0.89
XF1361	Beta-lactamase-like		VII.C	0.00	0.09	0.67	1.16	0.92
XF1493	virulence regulator	<i>xrvA</i>	VII.H	0.00	-0.28	0.34	1.53	0.82
XF1531	subunit F of alkyl hydroperoxide reductase	<i>ahpF</i>	VII.C	0.00	-0.04	0.18	1.18	0.62
XF1546	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.07	-0.93	0.90	0.71
XF1589	plasmid stabilization protein	<i>y4jK</i>	VI.B	0.00	0.23	0.75	1.09	1.47
XF1590	plasmid stabilization protein	<i>y4jJ</i>	VI.B	0.00	0.33	0.61	1.06	1.27
XF1591	phage related protein		VI.A	0.00	-0.09	-0.09	0.75	1.16
XF1661	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.24	0.32	0.93	1.05
XF1707	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.03	-0.13	1.02	1.08
XF1708	putative plasmid maintenance system antidote protein, XRE family		VI.B	0.00	0.10	0.27	1.38	1.63
XF1709	plasmid maintenance system killer		VI.B	0.00	0.03	0.01	1.42	1.63
XF1756	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.12	1.46	1.30	1.22
XF1767	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.03	0.09	0.39	0.84
XF1780	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.05	0.23	0.89	1.45
XF1814	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.30	0.92	0.92	1.14
XF1860	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.08	0.27	1.42	1.25
XF1904	holliday junction binding protein, DNA helicase	<i>ruvA</i>	III.A.4	0.00	0.07	0.76	1.10	0.51
XF1919	iron-sulfur flavoprotein		IX	0.00	-1.16	0.68	2.05	1.06
XF1931	transposase	<i>tnpA</i>	VI.C	0.00	0.23	-0.35	0.51	0.97
XF1991	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.14	0.33	0.45	1.75
XF2053	conjugal transfer protein	<i>trbE</i>	VI.B	0.00	0.27	0.82	0.88	1.31
XF2062	transcriptional repressor	<i>korC</i>	I.D	0.00	0.03	0.67	1.04	0.99
XF2063	DNA-invertase	<i>rin</i>	VI.C	0.00	0.28	0.99	1.12	1.05
XF2064	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.08	0.38	0.85	1.05
XF2065	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.20	0.75	1.03	1.05
XF2067	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.16	0.67	1.43	0.99
XF2068	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.05	0.65	1.39	1.04
XF2085	transcriptional regulator (AcrR family)	<i>SCI30A.12c</i>	I.D	0.00	-0.01	0.42	1.35	2.28
XF2110	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.19	0.48	1.12	1.51
XF2113	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.06	0.92	0.89	0.73
XF2122	Zn-finger, CHC2 type		III.A	0.00	-0.31	-1.38	1.51	2.50
XF2187	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.59	0.80	0.79	1.09
XF2392	autolytic lysozyme	<i>lyc</i>	IV.A.2	0.00	0.01	0.30	1.07	1.16
XF2407	bacteriocin		VII.C	0.00	0.02	0.68	1.31	2.11
XF2451	conserved hypothetical protein	<i>ypuG</i>	VIII.A	0.00	0.09	0.31	1.38	2.04
XF2501	phage-related protein	<i>nohA</i>	VI.A	0.00	-0.27	-0.53	0.54	1.04
XF2518	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.57	0.43	1.57	2.01
XF2715	transcriptional regulator (TetR family)		I.D	0.00	-0.02	-0.18	1.33	1.53
XF2717	hypothetical protein			0.00	0.32	-0.12	0.43	1.41
XF2718	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.86	0.18	1.27	1.76
XF2765	phage related protein		VI.A	0.00	0.06	0.39	1.18	1.70
XFa0003	topoisomerase I	<i>topA</i>	III.A.1	0.00	0.10	0.53	1.04	1.78
XFa0004	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.20	0.37	0.94	1.44
XFa0005	conjugal transfer protein	<i>trbC or virB2</i>	VI.B	0.00	-0.06	-0.06	0.28	1.45
XFa0019	site-specific recombinase	<i>rin</i>	III.A.3	0.00	0.13	0.63	1.38	1.19

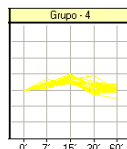
Grupo2 (continuação)

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	M = log ₂ (sacarose/controle)				
				0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XFa0020	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.03	0.44	2.13	2.25
XFa0021	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.05	0.70	2.54	3.18
XFa0023	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.21	0.78	2.35	2.31
XFa0024	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.08	1.27	2.20	1.28
XFa0027	plasmid maintenance protein	<i>pemK</i>	VI.B	0.00	0.15	0.49	0.87	1.04
XFa0028	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.16	0.78	1.71	1.34
XFa0035	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.24	0.67	1.39	1.50
XFa0041	conjugal transfer protein	<i>trbH</i>	VI.B	0.00	0.11	-0.30	0.35	0.98
XFa0044	conjugal transfer protein	<i>trbE</i>	VI.B	0.00	0.04	0.37	0.68	1.28
XFa0045	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.06	-0.08	1.50	1.23
XFa0046	predicted transcriptional regulator		I.D	0.00	-0.11	-0.44	0.99	0.96
XFa0047	nickase	<i>taxC</i>	VI.B	0.00	0.09	0.53	1.21	0.84
XFa0048	putative mobilisation protein	<i>mobC</i>	VI.B	0.00	0.08	0.17	2.35	1.28
XFa0052	virulence-associated protein D	<i>vapD</i>	VII.H	0.00	0.19	0.80	1.97	1.62
XFa0053	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.02	0.64	2.32	1.83
XFa0055	conserved hypothetical protein	<i>ydiA</i>	VIII.A	0.00	-0.13	0.10	1.12	1.32
XFa0059	plasmid replication/partition protein	<i>spoOJ</i>	VI.B	0.00	-0.38	-0.23	2.20	1.80
XFa0060	plasmid replication protein	<i>incC</i>	VI.B	0.00	-0.14	0.39	2.52	1.19
XFa0062	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.17	0.41	0.93	1.05



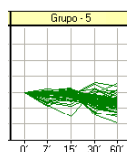
Grupo 3

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	M = log ₂ (sacarose/controle)				
				0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XF0112	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.23	1.11	0.44	1.01
XF0154	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.01	2.52	0.76	0.83
XF0250	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.68	1.93	0.24	0.15
XF0323	two-component system, sensor protein		I.D	0.00	1.97	3.08	1.23	2.63
XF0529	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.63	2.34	0.98	1.32
XF0531	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.07	1.82	0.95	0.94
XF0663	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.25	2.12	0.50	0.89
XF0667	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.13	2.32	-0.56	-0.25
XF0787	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.27	2.49	0.74	1.32
XF0808	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.78	1.72	0.88	0.40
XF0953	GTP cyclohydrolase II/3,4-dihydroxy-2-butanone 4-phosphate synthase	<i>ribA</i>	II.D.9	0.00	1.94	2.40	-0.01	-0.16
XF1249	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.55	1.70	0.99	1.27
XF1528	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.85	2.96	1.23	-0.68
XF1705	phage related protein		VI.A	0.00	1.36	2.54	1.11	2.08
XF1915	anthranilate synthase component II	<i>trpG</i>	II.A.4	0.00	2.83	3.66	0.15	-0.16
XF1917	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.89	2.41	1.12	1.55
XF1973	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.64	3.72	1.14	0.43
XF1974	hypothetical protein		VIII.B	0.00	1.66	2.11	2.03	2.14
XF2307	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.98	2.03	1.14	1.16
XFa0064	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	1.77	2.72	2.05	2.87



Grupo 4

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	M = log ₂ (sacrose/control)				
				0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XF0155	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.64	1.77	0.39	0.18
XF0169	tyrosyl-tRNA synthetase	<i>tyrS</i>	III.B.4	0.00	0.34	1.26	0.64	0.40
XF0300	acriflavin resistance protein		VII.C	0.00	1.30	0.92	-0.34	-0.21
XF0324	periplasmic iron-binding protein		V.A.4	0.00	0.62	1.11	0.82	0.15
XF0338	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.76	1.16	0.73	0.22
XF0666	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.14	1.21	0.33	0.36
XF0670	malonyl CoA-ACP transacylase	<i>fabD</i>	II.E	0.00	0.49	1.20	-0.15	0.43
XF0705	phage-related protein		VI.A	0.00	0.72	1.39	-0.26	-0.07
XF0746	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.88	0.93	0.13	0.24
XF0966	type 4 fimbrial biogenesis protein		IV.D	0.00	0.35	0.93	0.88	0.24
XF1557	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.53	0.81	-0.05	0.02
XF1587	putative phage related protein		VI.A	0.00	0.82	1.65	1.15	0.13
XF1718	phage-related integrase	<i>int</i>	VI.A	0.00	0.73	0.95	-0.62	0.15
XF1868	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.31	1.03	0.09	0.35
XF2034	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.57	0.90	0.14	0.38
XF2037	conserved hypothetical protein	<i>bioF2</i>	VIII.A	0.00	0.65	1.70	0.54	0.62
XF2071	predicted transcriptional regulator		I.D	0.00	0.53	1.09	0.30	-0.06
XF2114	phage related protein		VI.A	0.00	0.25	1.97	0.55	0.34
XF2195	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.80	2.01	-0.11	-0.28
XF2439	cytidylate kinase	<i>cmkA</i>	II.B.2	0.00	0.79	1.62	0.49	0.03
XF2515	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.64	0.91	0.86	0.77
XF2762	phage related protein		VI.A	0.00	1.05	1.32	1.79	0.01
XF2775	hemagglutinin-like secreted protein	<i>pspA</i>	VII.F	0.00	0.86	1.25	-0.45	-1.09
XF2781	ribonuclease P	<i>rnpA</i>	III.B.4	0.00	0.75	1.27	0.28	-0.25



Grupo 5

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	M = log ₂ (sacrose/control)				
				0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XF0010	biopolymer transport ExbB protein	<i>exbB</i>	VII.C	0.00	0.14	-0.11	-0.94	-1.24
XF0011	biopolymer transport ExbD1 protein	<i>exbD1</i>	VII.C	0.00	0.02	-0.08	-0.75	-1.16
XF0012	biopolymer transport ExbD2 protein	<i>exbD2</i>	VII.C	0.00	0.08	-0.26	-0.88	-1.54
XF0017	coproporphyrinogen III oxidase, aerobic	<i>hemF</i>	II.D.12	0.00	-0.28	-0.42	-1.02	-1.21
XF0061	transcriptional repressor	<i>korB</i>	I.D	0.00	-1.78	-0.38	1.22	0.72
XF0107	30S ribosomal protein S16	<i>rpsP</i>	III.B.2	0.00	0.09	0.01	-1.12	-1.44
XF0125	carbon storage regulator	<i>csrA</i>	I.D	0.00	-0.14	-0.40	-0.61	-1.12
XF0266	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.19	0.00	-1.10	-0.24
XF0274	6-phosphofructokinase		I.C.4	0.00	-0.13	-0.16	-1.28	-1.52
XF0275	adenylate kinase		II.B.1	0.00	-0.28	-0.01	-1.13	-1.52
XF0276	UDP-N-acetylmuramate-L-alanine ligase		IV.B	0.00	-0.24	-0.19	-0.89	-0.89
XF0309	NADH-ubiquinone oxidoreductase, NQO2 subunit		I.C.1	0.00	-1.22	-0.40	1.00	-0.23
XF0353	translation initiation inhibitor		III.C.1	0.00	-0.13	-0.04	-1.48	-1.69
XF0356	cytochrome P-450 hydroxylase		II.D.1	0.00	-1.17	-1.55	0.39	-0.48
XF0362	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.14	-0.34	-0.75	-0.85
XF0381	chaperone	<i>clpB</i>	III.C.2	0.00	-0.06	-0.26	-1.94	-1.97
XF0426	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.16	-0.24	-1.22	-1.36
XF0452	integral membrane protease	<i>hflK</i>	III.C.3	0.00	-0.03	0.19	-0.67	-1.17
XF0463	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-1.37	-0.30	-2.39	-1.15
XF0515	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.39	-1.21	-0.10	1.07
XF0527	phage related protein		VI.A	0.00	-0.68	0.04	-0.27	-1.00
XF0603	cystathionine beta-synthase	<i>cysB</i>	II.A.3	0.00	-0.06	-0.26	-0.38	-0.99
XF0614	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	0.02	-0.27	-1.06	-1.76
XF0615	60kDa chaperonin	<i>groEL</i>	III.C.2	0.00	0.44	0.07	-1.64	-2.17
XF0616	10kDa chaperonin	<i>groES</i>	III.C.2	0.00	0.19	-0.22	-2.50	-3.16
XF0826	fructose-bisphosphate aldolase		I.C.4	0.00	-0.06	-0.40	-1.93	-2.42
XF0832	siroheme synthase	<i>cysG</i>	II.D.12	0.00	-0.74	-0.18	-1.28	0.32
XF0911	stringent starvation protein A	<i>sspA</i>	I.D	0.00	-0.09	0.20	-0.51	-0.97
XF0975	polyphosphate-selective porin O	<i>oprO</i>	IV.A.2	0.00	-0.07	0.01	-1.75	-1.61
XF0990	hypothetical protein		VIII.B	0.00	0.18	-0.33	-1.54	-1.99

Grupo5 (continuação)				M = log ₂ (sacarose/controle)				
Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	0 min	7 min	15 min	30 min	60 min
XF0991	DnaK supressor	<i>RP816</i>	III.C.2	0.00	0.12	-0.02	-1.23	-1.80
XF1024	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.04	-0.31	-1.58	-2.51
XF1037	adenosylhomocysteinase	<i>ahcY</i>	I.B.10	0.00	-0.90	-1.07	-0.64	-1.05
XF1069	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.16	-0.05	-0.62	-0.81
XF1074	conserved hypothetical protein	<i>ygfY</i>	VIII.A	0.00	0.19	0.46	-0.61	-1.88
XF1117	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.09	-0.21	-0.24	-0.85
XF1164	50S ribosomal protein L5	<i>rplE</i>	III.B.2	0.00	-0.31	-0.54	-1.03	-0.77
XF1205	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.18	-0.33	-0.61	-1.15
XF1206	50S ribosomal protein L28	<i>rpmB</i>	III.B.2	0.00	-0.17	-0.29	-0.45	-1.28
XF1207	50S ribosomal protein L33	<i>rpmG</i>	III.B.2	0.00	-0.19	-0.45	-0.64	-1.76
XF1210	glutathione S-transferase	<i>gst</i>	VII.C	0.00	-0.06	-0.12	-0.98	-1.28
XF1241	aconitate hydratase 1	<i>acnA</i>	I.D	0.00	-0.60	-0.47	-1.11	-1.32
XF1256	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.17	-0.67	-0.69	-0.95
XF1262	7,8-dihydro-8-oxoguanine-triphosphatase	<i>mutX</i>	III.A.4	0.00	-0.16	-0.40	-1.15	-1.53
XF1287	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.02	-0.06	0.41	-1.10
XF1368	adenine-specific methylase	<i>hl1201</i>	III.A.5	0.00	-0.14	-0.16	-1.19	-1.40
XF1385	glycine decarboxylase	<i>gcvP</i>	I.B.10	0.00	-0.31	-0.48	-0.71	-0.77
XF1485	heat shock protein	<i>hslU</i>	III.C.3	0.00	0.05	-0.33	-0.97	-1.50
XF1487	ubiquinone/menaquinone transferase	<i>ubiE</i>	II.D.11	0.00	-0.01	-0.12	-0.56	-0.89
XF1502	RNA polymerase omega subunit	<i>rpoZ</i>	III.B.5	0.00	0.07	-0.06	-0.99	-1.03
XF1679	plasmid-related protein	<i>traN</i>	VI.B	0.00	0.04	-0.43	-1.02	-1.29
XF1721	putative transcriptional regulator (LysR family)		I.D	0.00	-0.60	-1.00	-0.80	0.30
XF1775	reverse transcriptase	<i>IS629</i>	VI.C	0.00	-1.59	-3.09	0.53	-1.06
XF1783	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.36	-0.93	-1.77	-1.24
XF2118	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.50	-0.55	-1.40	-0.05
XF2141	ABC transporter phosphate binding protein	<i>phoX</i>	V.A.2	0.00	0.08	0.06	-2.05	-1.86
XF2222	histidyl-tRNA synthetase	<i>hisS</i>	III.B.4	0.00	-0.27	-0.18	-1.27	-1.66
XF2233	DnaJ protein	<i>dnaJ</i>	III.C.2	0.00	-0.11	0.00	-1.05	-1.69
XF2234	low molecular weight heat shock protein	<i>hspA</i>	VII.G	0.00	-0.12	-0.28	-0.95	-2.05
XF2241	periplasmic protease	<i>mucD</i>	III.C.3	0.00	-0.11	0.22	-1.40	-0.55
XF2252	predicted membrane protein		IV.A.1	0.00	-0.50	-0.94	0.12	0.21
XF2339	DnaJ protein	<i>dnaJ</i>	III.C.2	0.00	0.00	-0.11	-1.74	-2.53
XF2340	DnaK protein	<i>dnaK</i>	III.C.2	0.00	0.04	-0.06	-2.07	-2.53
XF2341	heat shock protein GrpE	<i>grpE</i>	III.C.2	0.00	0.02	-0.29	-2.65	-2.95
XF2409	DNA helicase		III.A	0.00	-1.33	-1.75	-0.50	-0.68
XF2423	50S ribosomal protein L27	<i>rpmA</i>	III.B.2	0.00	-0.12	-0.11	-1.19	-1.47
XF2424	50S ribosomal protein L21	<i>rplU</i>	III.B.2	0.00	-0.17	-0.56	-1.53	-1.44
XF2542	fimbrial protein		IV.D	0.00	0.15	0.52	-2.94	-3.89
XF2543	hypothetical protein		VIII.B	0.00	-0.15	-0.34	-1.00	-0.89
XF2580	30S ribosomal protein S2	<i>rpsB</i>	III.B.2	0.00	0.02	0.26	-0.48	-1.33
XF2587	conserved hypothetical protein		VIII.A	0.00	-0.06	-0.23	-1.38	-1.32
XF2591	polyphosphate kinase	<i>ppk</i>	I.B.9	0.00	-0.03	0.26	-0.68	-1.12
XF2651	putative RNA methylase		III.B	0.00	-0.11	-0.24	-1.05	-0.63
XF2742	type I restriction-modification system DNA methylase	<i>hsdM</i>	III.A.5	0.00	-0.15	-0.12	-1.53	-1.90

Tabela S12: Prováveis promotores dependentes de σ^{70} , encontrados pela análise *in silico* nos genes induzidos pelo choque salino e osmótico. A posição +1 corresponde ao códon de início da tradução.

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	-35	Espaço mento	-10	Pontuação	Início -35	Início -10
XF0112	hypothetical protein		VIII.B	TGGACC	17	CAAACCT	1.45	-166	-143
XF0169	tyrosyl-tRNA synthetase	<i>tyrS</i>	III.B.4	CTGCAA	18	TAACAT	2.32	-176	-152
XF0195	hypothetical protein		VIII.B	TTGTTA	18	TATTCT	2.63	-183	-159
XF0234	N utilization substance protein A		III.B.5	TTGAGC	16	CAACAT	1.26	-175	-153
XF0250	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTCGGA	18	TAGGGT	1.12	-83	-59
XF0300	acriflavin resistance protein		VII.C	CTGCCA	18	TTGAAT	1.92	-174	-150
XF0323	two-component system, sensor protein		I.D	GTCACT	17	TCTCAT	1.06	-55	-32
XF0324	periplasmic iron-binding protein	<i>afuA</i>	V.A.4	TTGTTA	17	CATCGT	1.49	-103	-80
XF0337	hypothetical protein		VIII.B	CTCACA	16	TATACT	3.24	-44	-22
XF0338	conserved hypothetical protein		VIII.A	TAGTAT	16	TAAGAT	1.87	-55	-33
XF0390	two-component system, sensor protein		I.D	TATGATA	17	TATCGT	2.99	-71	-48
XF0391	hypothetical protein		VIII.B	TTTAAT	16	TTTAAT	2.06	-114	-92
XF0490	conserved hypothetical protein		VIII.A	CTGTCC	17	GACATT	0.64	-55	-32
XF0493	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTGACA	18	TAAATT	4.29	-84	-60
XF0501	conserved hypothetical protein	<i>ydaS</i>	VIII.A	TTGCCT	16	AAGAAT	2.03	-59	-37
XF0529	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTGGAT	17	GAAGTT	1.29	-108	-85
XF0531	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTTAAA	17	TTTAAT	2.46	-55	-32
XF0533	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTGACA	18	CTTAAT	2.90	-62	-38
XF0534	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTGATT	16	CATCGT	1.61	-51	-29
XF0663	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTGAGG	18	TATGTC	1.58	-99	-75
XF0666	conserved hypothetical protein		VIII.A	GTGCCT	17	TCTATT	1.42	-79	-56
XF0705	phage-related protein		VI.A	CTGTCT	16	TTAATT	1.25	-124	-102
XF0765	YeeE/YedE integral membrane protein		IX	GTGACG	17	GACGAT	1.81	-194	-171
XF0766	YeeE/YedE integral membrane protein		IX	CTGGCA	16	CAATAT	1.56	-118	-96
XF0768	Beta-lactamase-like		VII.C	TTGACT	18	TATATT	4.24	-60	-36
XF0786	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTGATA	18	CAGTAT	1.90	-157	-133
XF0787	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTTCCT	16	TATGAT	2.74	-132	-110
XF0811	predicted methyltransferase		III.	GTGTCG	18	TATACC	1.95	-185	-161
XF0966	type 4 fimbrial biogenesis protein		IV.D	ATGAAA	18	CAAAAT	1.79	-106	-82
XF1021	acyl-CoA thioesterase II	<i>tesB</i>	IX	TTCAGA	18	TATGAT	2.85	-57	-33
XF1032	hypothetical protein		VIII.B	GTGATA	18	GATAAT	2.26	-43	-19
XF1185	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTGTCA	17	TATGGT	3.56	-185	-162
XF1220	colicin V secretion ABC transporter ATP-binding protein	<i>cvaB</i>	VII.C	TACTCA	16	TAAAAT	2.41	-46	-24
XF1361	Beta-lactamase-like		VII.C	TTGATG	18	TACAGT	2.57	-109	-85
XF1396	hypothetical protein		VIII.B	TTGGAA	18	CACATT	1.96	-92	-68
XF1397	2-polyprenyl-3-methyl-5-hydroxy-6-methoxy-1,4-benzoquinol methylase / ubiG		II.D.11	TTGAAC	16	GATACT	2.46	-74	-52
XF1491	hypothetical protein		VIII.B	TTGGAA	18	TATTTT	2.81	-138	-114
XF1493	virulence regulator	<i>xrvA</i>	VII.H	TATCCA	16	TATACT	2.36	-71	-49
XF1513	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTCCCA	16	GAAAAT	2.42	-83	-61
XF1589	plasmid stabilization protein	<i>y4jK</i>	VI.B	TTCGCA	16	TACCCT	2.23	-119	-97
XF1590	plasmid stabilization protein	<i>y4jJ</i>	VI.B	ATGGCA	18	TAAAAT	2.51	-56	-32
XF1591	phage related protein		VI.A	TTGAAT	16	TAGGCT	3.04	-67	-45
XF1594	putative phage related protein		VI.A	GTGATG	17	TACGGT	1.27	-71	-48
XF1661	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTTTAA	18	GATCTT	1.11	-138	-114
XF1707	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTGCAG	18	GATTTT	1.55	-147	-123
XF1708	putative plasmid maintenance system antidote protein, XRE family		VI.B	CTGACG	18	TGAAAT	1.57	-194	-170
XF1709	plasmid maintenance system killer		VI.B	TTGAAA	17	TACCCT	3.24	-65	-42
XF1756	conserved hypothetical protein		VIII.A	TGGACC	16	TTTCGT	0.58	-179	-157
XF1780	conserved hypothetical protein		VIII.A	CTGACT	17	GAAGCT	1.78	-60	-37
XF1798	conserved hypothetical protein		VIII.A	GTGATT	18	GAAGAT	1.04	-134	-110
XF1804	site-specific DNA-methyltransferase	<i>sphIM</i>	III.A.5	TCGTCT	17	CATATT	1.34	-75	-52
XF1814	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTCCCC	17	TTGATT	0.56	-104	-81
XF1860	conserved hypothetical protein		VIII.A	CTCACG	16	TATTTT	1.90	-71	-49
XF1868	conserved hypothetical protein		VIII.A	CTGTTA	17	TATCAT	2.11	-142	-119
XF1877	conserved hypothetical protein		VIII.A	GTGCCA	17	TTTTAGT	1.96	-85	-62
XF1914	anthranilate synthase component I	<i>trpE</i>	II.A.4	TTGAAT	18	TACCAT	3.06	-66	-42
XF1915	anthranilate synthase component II	<i>trpG</i>	II.A.4	TTCACA	16	TAAAGC	2.22	-49	-27
XF1916	coenzyme F390 synthetase	<i>af1671</i>	II.D.17	TTGATA	18	TATACT	3.87	-52	-28
XF1917	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTGTCA	17	TAGAAG	2.41	-168	-145
XF1918	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTCAGT	16	CATATT	1.51	-94	-72
XF1919	iron-sulfur flavoprotein		IX	GTGCTA	16	CATAAT	1.78	-97	-75
XF1938	hypothetical protein		VIII.B	ATGAAA	17	CATTAT	1.42	-181	-158
XF1973	conserved hypothetical protein		VIII.A	CTTAAA	16	TAATAT	1.79	-80	-58
XF1974	hypothetical protein		VIII.B	GTCACG	16	TTAAGT	1.00	-52	-30
XF1977	hypothetical protein		VIII.B	CTGGCG	16	CACACT	1.42	-70	-48
XF1991	hypothetical protein		VIII.B	CGGACT	16	TATGAT	2.18	-157	-135

Gene.ID	Produto	Nome do gene	Categoria funcional	-35	Espaçamento	-10	Pontuação	Início -35	Início -10
XF2034	hypothetical protein		VIII.B	GTGGCA	16	TATGAA	1.49	-143	-121
XF2037	conserved hypothetical protein	<i>bioF2</i>	VIII.A	GAGCCA	16	GATCGT	0.57	-104	-82
XF2064	hypothetical protein		VIII.B	GTGAAA	17	TAGGCT	2.62	-84	-61
XF2065	hypothetical protein		VIII.B	GTGACA	17	CAAGCT	2.30	-112	-89
XF2068	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTGCAT	17	CACAAT	2.16	-60	-37
XF2078	hypothetical protein		VIII.B	CTGTAA	18	GATAAT	2.25	-65	-41
XF2079	conjugal transfer protein		VI.B	TTGCCA	18	TATTTT	3.38	-135	-111
XF2085	transcriptional regulator (AcrR family)		I.D	TTTGCG	17	TAAAAT	2.77	-81	-58
XF2110	hypothetical protein		VIII.B	TTGGCG	18	TACAAA	1.80	-46	-22
XF2111	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTGGTG	17	TAAAAT	2.71	-48	-25
XF2112	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTTACT	16	TTTGAT	2.02	-132	-110
XF2113	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTCGCT	18	TTTGGT	0.98	-154	-130
XF2114	phage related protein		VI.A	CTCACT	18	GACGCT	0.72	-188	-164
XF2122	Zn-finger, CHC2 type		III.A	CAGCCA	18	TACATC	0.36	-154	-130
XF2198	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTTCCA	18	TAATAT	2.56	-42	-18
XF2257	predicted membrane protein	<i>yebN</i>	IV.A.1	TTGATT	16	TACACT	2.86	-101	-79
XF2258	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTGAAG	18	CAGAAT	2.81	-118	-94
XF2307	conserved hypothetical protein		VIII.A	CTGATG	17	TAAAAT	2.51	-117	-94
XF2382	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTCTCT	17	GATAGT	1.84	-183	-160
XF2390	putative oxidoreductase protein		I.C	GTGGCA	17	TATCCT	2.81	-98	-75
XF2392	autolytic lysozyme	<i>lyc</i>	IV.A.2	TTCAAA	17	TAAGTT	2.59	-128	-105
XF2439	cytidylate kinase	<i>cmkA</i>	II.B.2	TTGAAG	16	TATAGC	2.53	-89	-67
XF2451	conserved hypothetical protein	<i>ypuG</i>	VIII.A	TTGACC	16	TTTGAT	2.40	-153	-131
XF2514	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTGACA	17	TAATTT	3.58	-82	-59
XF2518	conserved hypothetical protein		VIII.A	TACACG	18	AAAACCT	0.74	-173	-149
XF2519	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTTCAT	17	TAACCC	0.40	-57	-34
XF2718	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTTTGA	16	CAGAAT	1.16	-61	-39
XF2762	phage related protein		VI.A	GTGCCG	17	TCTCCT	1.11	-111	-88
XF2781	ribonuclease P	<i>mpA</i>	III.B.4	TAGTAA	16	GATCAT	1.49	-152	-130
XFa0002	conjugal transfer protein	<i>virB1</i>	VI.B	TTGCTA	18	TATATT	3.08	-77	-53
XFa0003	topoisomerase I	<i>topA</i>	III.A.1	TTCTCC	18	TACGTT	1.26	-184	-160
XFa0004	hypothetical protein		VIII.B	TATACG	18	TATAAC	1.93	-74	-50
XFa0005	conjugal transfer protein	<i>virB2</i>	VI.B	CTGTCT	18	TATGGC	1.07	-189	-165
XFa0019	site-specific recombinase	<i>rin</i>	III.A.3	TTGGCG	16	TAGCCT	1.27	-82	-60
XFa0020	conserved hypothetical protein		VIII.A	CTGGCA	17	CAGGTT	1.15	-79	-56
XFa0021	hypothetical protein		VIII.B	ATGGCA	18	TATCTC	0.58	-146	-122
XFa0023	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTGCAG	17	TATAAA	2.10	-70	-47
XFa0024	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTTACA	18	TACAAT	3.54	-41	-17
XFa0027	plasmid maintenance protein	<i>pemK</i>	VI.B	TAGGCA	17	TTCATT	1.06	-156	-133
XFa0028	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTGAAA	16	TACATT	3.58	-195	-173
XFa0030	hypothetical protein		VIII.B	TTGAAC	17	GAGGCT	1.46	-159	-136
XFa0031	hypothetical protein		VIII.B	CTGAGA	16	TAAAAT	2.91	-152	-130
XFa0035	conserved hypothetical protein		VIII.A	TCGCCA	16	GAACAT	1.20	-78	-56
XFa0036	conjugal transfer protein	<i>trbN</i>	VI.B	TGGCAG	18	TTGCAT	0.21	-181	-157
XFa0037	conjugal transfer protein	<i>trbL</i>	VI.B	TAGTCA	17	AATACT	1.71	-181	-158
XFa0045	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTGAAC	18	GAAAAT	2.34	-95	-71
XFa0046	predicted transcriptional regulator		I.D	TTAAAG	16	AAGACT	0.22	-174	-152
XFa0048	putative mobilisation protein	<i>mobC</i>	VI.B	TTTACA	18	TACGTT	2.59	-100	-76
XFa0049	hypothetical protein		VIII.B	TTGACA	17	CATAAT	4.15	-61	-38
XFa0050	stability partitioning determinant	<i>stbB</i>	VI.B	TCGACA	16	CAAATT	1.92	-180	-158
XFa0051	hypothetical protein		VIII.B	GTCACG	18	GATATT	1.65	-60	-36
XFa0052	virulence-associated protein D	<i>vapD</i>	VIII.H	TTGTCT	17	GATTTT	1.98	-128	-105
XFa0053	hypothetical protein		VIII.B	TTGGCC	17	GAAAAT	2.11	-114	-91
XFa0054	conserved hypothetical protein		VIII.A	TTTAAG	17	CAAGAT	1.57	-168	-145
XFa0055	conserved hypothetical protein	<i>ydiA</i>	VIII.A	TTGACA	17	CATAAT	4.15	-88	-65
XFa0059	plasmid replication/partition protein	<i>spoOJ</i>	VI.B	TTGCGA	17	CATCAT	2.04	-176	-153
XFa0060	plasmid replication protein	<i>incC</i>	VI.B	TTGACA	17	TAGAAT	4.58	-60	-37
XFa0064	conserved hypothetical protein		VIII.A	CTGTAA	17	AAGAAT	1.14	-82	-59
XFb0002	hypothetical protein		VIII.B	ATGACC	18	TCTATT	0.62	-55	-31

CURRICULUM VITAE

NOME: Tie Koide

LOCAL E DATA DE NASCIMENTO: São Paulo, SP, 15 de outubro de 1979

EDUCAÇÃO

Colégio Liceu Pasteur - São Paulo - SP - 1997

Universidade de São Paulo - São Paulo - SP - 2001
Bacharelado em Ciências Moleculares

OCUPAÇÃO

Bolsista de doutorado FAPESP – 2002 a 2006

PUBLICAÇÕES

DA SILVA NETO, J.F.; KOIDE, T.; GOMES, S.L.; MARQUES, M.V. The single ECF sigma factor of *Xylella fastidiosa* is involved in the heat shock response and presents an unusual regulatory mechanism. Submetido.

KOIDE, T.; VENCIO, R.Z.; GOMES, S.L. Global gene expression analysis of the heat shock response in the phytopathogen *Xylella fastidiosa*. **J Bacteriol**, no prelo.

KOIDE, T.; SALEM-IZACC, S.M.; GOMES, S.L.; VENCIO, R.Z. SpotWhatR: a user-friendly microarray data analysis system. **Genet Mol Res**, v. 5, p. 93-107, 2006.

VENCIO, R.Z.; KOIDE, T.; GOMES, S.L.; PEREIRA, C.A. BayGO: Bayesian analysis of ontology term enrichment in microarray data. **BMC Bioinformatics**, v. 7, n. 1, p. 86, 2006.

VENCIO, R.Z.; KOIDE, T. HTself: Self-Self Based Statistical Test for Low Replication Microarray Studies. **DNA Res**, v. 12, n. 3, p. 211-214, 2005.

KOIDE, T.; ZAINI, P.A.; MOREIRA, L.M.; VENCIO, R.Z.; MATSUKUMA, A.Y.; DURHAM, A.M.; TEIXEIRA, D.C.; EL-DORRY, H.; MONTEIRO, P.B.; DA SILVA, A.C.; VERJOVSKI-ALMEIDA, S.; DA SILVA, A.M.; GOMES, S.L. DNA microarray-based genome comparison of a pathogenic and a nonpathogenic strain of *Xylella fastidiosa* delineates genes important for bacterial virulence. **J Bacteriol**, v. 186, n. 16, p. 5442-5449, 2004.

KOIDE, T.; DA SILVA NETO, J.F.; GOMES, S.L. ; MARQUES, M.V. Insertional transposon mutagenesis in the *Xylella fastidiosa* Citrus Variegated Chlorosis strain with transposome. **Curr Microbiol**, v. 48, n. 4, p. 247-250, 2004.

DA SILVA NETO, J.F.; KOIDE, T.; GOMES, S.L.; MARQUES, M.V. Site-directed gene disruption in *Xylella fastidiosa*. **FEMS Microbiol Lett**, v. 210, n. 1, p. 105-110, 2002.