



Identificação dos genes codificantes da enzima Glicerol-3-Fosfato-1-Aciltransferase (G3PAT) em algas com genoma sequenciado.

Macorin, R¹; Dias, N¹; Cagliari, A¹.

¹ Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - UERGS - Santa Cruz do Sul-RS

Introdução

Resultados e Discussão

Triacilgliceróis (TAGs) são a principal forma de armazenagem de lipídeos em organismos vivos. Esses lipídeos de armazenagem apresentam grande valor nutricional e representam uma importante fonte de óleos comestíveis para alimentação humana e para a indústria. Uma das principais fontes comerciais de lipídeos são as algas. Baseado em sua diversidade lipídica inúmeras algas veem sendo estudadas buscando por variedade que apresentam uma grande capacidade de acúmulo de lipídeos. O metabolismo de lipídeos em algas, especialmente a formação de TAGs, é muito menos compreendido do que em plantas superiores. (Figura 1)

Identificamos ao todo 7 genes em algas referente a busca realizada pela isca plastidial At1g32200 (Tabela 1). Onde foi constatado que a localização subcelular predita na Mitocôndria, não apresentando domínio transmembrana, nem peptídeo sinal.

Tabela 1. Análise de Domínio transmembrana, localização subcelular e peptídeo sinal no gene G3PAT em algas

Isca At1g32200 PLASTIDIAL						
ESPECIES	ACRONIMOS	TRANSMEMBRANA	SEQUENCIA TRANSMEMBRANA	LOCALIZAÇÃO SUBCELULAR	PEPTÍDEO SINAL	
		TMHMM	Tmpred	TARGET P	CELLO	SignalP
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> v5.5	CrG3PAT1	Não	76 a 96 aminoácidos	Mitocondria	Mitocondria	Não
<i>Volvox carteri</i> v2.0	VcG3PAT1	Não	-	Mitocondria	Mitocondria	Não
<i>Coccomyxa subellipsoidea</i> C-169 v 2.0	CsG3PAT1	Não	63 a 81 aminoácidos	Citoplasma	Mitocondria	Não
<i>Micromonas</i> sp. RCC299 v3.0	MsG3PAT1	Não	63 a 80 aminoácidos	Citoplasma	Mitocondria	Não
<i>Ostreococcus lucimarinus</i> v2.0	OIG3PAT1	Não	-	Mitocondria	Mitocondria	Não
<i>Ostreococcus lucimarinus</i> v2.0	OIG3PAT2	Não	-	Mitocondria	Mitocondria	Não
<i>Micromonas pusilla</i> CCM1545 v3.0	MpG3PAT1	Não	30 a 47 aminoácidos	Citoplasma	Cloroplasto	Não

Utilizando a plataforma/ferramenta MEME, foi verificado que essas sequencias contém o domínio G3PAT conservado. A altura total em cada pilha indica a sequência conservada em cada posição. A altura de cada letra é proporcional as repetições dos aminoácidos nos 7 genes. (Figura 2)



Figura 2. Análise da conservação da sequência consenso da enzima G3PAT. A análise dos 7 genes G3PAT foi realizada à frequência relativa correspondente. Os aminoácidos estão coloridos conforme sua propriedade química: Azul para a maioria dos resíduos hidrofóbicos (A, C, F, I, L, V e M); Verde para polares, sem carga, sem resíduo alifático (N, Q, S e T); Vermelho para resíduos positivamente carregados (K e R); Laranja para glicina (G); Rosa para histidina (H); amarelo para prolina (P) e turquesa para tirosina (Y).

Identificamos cópias de domínio G3PAT em todos os organismos analisados, variando de uma à 20 cópias. Onde esses genes apresentaram uma grande conservação em seus domínios. O resultado da árvore filogenética, foi que as espécies pertencentes a família *Mamiellales*, formam um grupo filogeneticamente mais próximo. Além disso observou-se que as espécies *Micromonas* sp.(MsG3PAT1), *Micromonas pusilla*(MpG3PAT1) e *Ostreococcus lucimarinus*(OIG3PAT1e2) que pertencem ao subfilo *Prasinophytina*, formam um grupo filogenético distinto das espécies *Chlamydomonas reinhardtii*(CrG3PAT1), *Volvox carteri*(VcG3PAT1) e *Coccomyxa subellipsoidea*(CsG3PAT1), pertencentes ao subfilo *Chlorophytina*. (Figura 3)

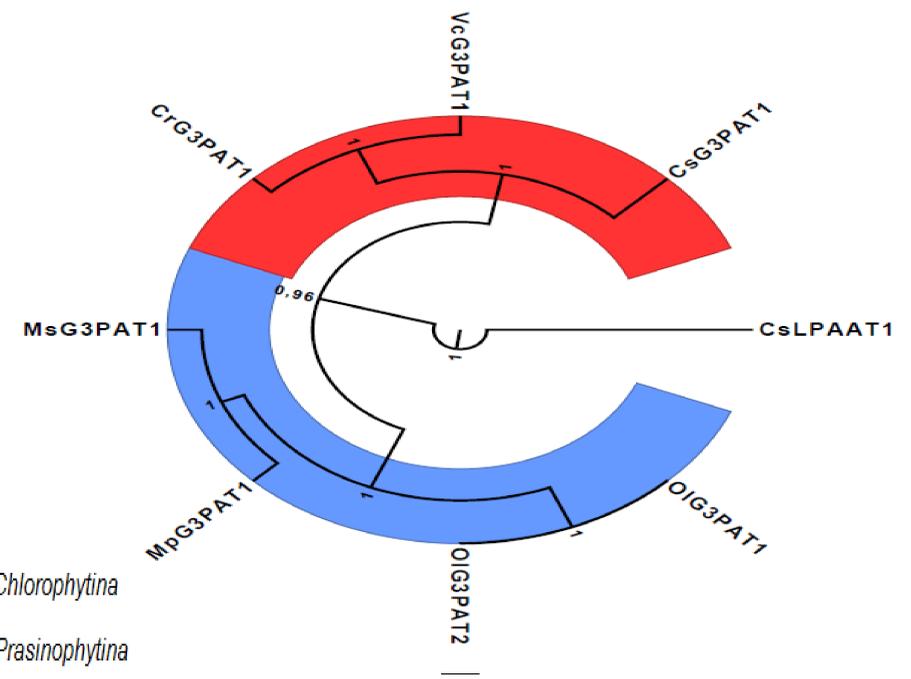


Figura 3. Análise Bayseana que relaciona os genes da enzima G3PAT, em vermelho e azul. E um gene externo pertencente a enzima LPAAT, em algas.

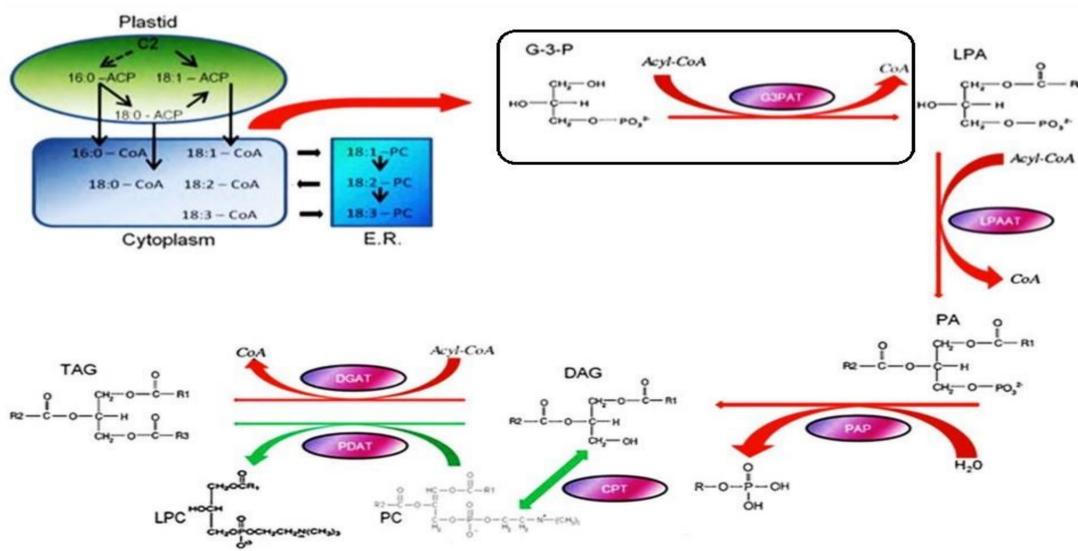


Figura 1. Biossíntese de triacilglicerol. Esquema geral da síntese de TAG em algas. A síntese de Ácidos graxos (AG) ocorre em plastídeos. No passo seguinte, o AG é incorporado num esqueleto de glicerol, levando à formação de TAG. As setas vermelhas indicam a via dependente de Acil-CoA (rota de Kennedy). Setas verdes indicam vias alternativas de biossíntese de TAG (Acil-CoA-independente). As enzimas envolvidas na biossíntese de TAG estão apresentados como formas ovais: glicerol-3-fosfato aciltransferase (G3PAT), aciltransferase lisofosfatídico ácido (LPAAT), fosfatase fosfatidato (PAP), diacilglicerol aciltransferase diacilglicerol (PDAT), fosfolípido:diacilglicerol aciltransferase diacilglicerol (DGAT) e colina fosfotransferase (CPT). ACP: proteína transportadora de acilo; G3P: glicerol-3-fosfato; LPA: ácido lisofosfatídico; PA: ácido fosfatídico; DAG: diacilglicerol; TAG: triglicerídeos; PC:fosfatidilcolina; PC:lisofosfatidilcolina.

Uma das principais enzimas envolvidas no acúmulo de lipídeos em forma de TAGs é a Glicerol-3-Fosfato-1-Aciltransferase (G3PAT). A G3PAT é uma enzima solúvel, responsável por catalisar a incorporação de um grupo Acil, a partir de proteínas de transporte ou moléculas de Acil-CoA para a posição sn-1 de glicerol-3-fosfato, para se obter o ácido Lisofosfatídico.

Objetivo

Identificação dos genes codificantes da enzima Glicerol-3-Fosfato-1-Aciltransferase (G3PAT) em algas com genoma sequenciado.

Metodologia

As seqüências codificantes das proteínas G3PAT melhor caracterizadas e presentes em *Arabidopsis thaliana* foram usadas como iscas para buscas usando a ferramenta BLAST (tBLASTx e BLASTN) realizadas contra o banco de dados Phytozome (<http://www.phytozome.org/>). Após isso, os domínios proteicos presentes em todos os genes G3PAT foram analisados utilizando o programa MEME (<http://meme.sdsc.edu/meme/>). A análise filogenética usando as seqüências consenso completas das proteínas G3PAT identificadas foi realizada utilizando o software BEAST v.1.4.7 (20 milhões de gerações) a fim de verificar a relação filogenética entre os genes identificados.

Apoio

FAPERGS – Fundação de Amparo a pesquisa do Rio Grande do Sul
CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico