CONEXÕES QUE TRANSFORMAM
19 a 23 de outubro - Campus do Vale - UFRGS
XXVII SIC
Salão de Iniciação Científica

IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE FILOGENÉTICA DA ENZIMA ÁCIDO FOSFATÍDICO FOSFATASE (PAP) E SEU PAPEL NA FORMAÇÃO DE TRIACILGLICEROIS (TAGs) EM ALGAS.

Pulga, C.M.[1]; Cagliari, A[1].

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

Introdução

Os triglicerídeos (TAGs) são a principal forma de armazenamento de lipídios nos seres vivos. TAGs são de grande importância nutricional, sendo uma fonte comum de óleos para fins alimentares (consumo humano) e industriais. A formação dos TAGs depende de várias enzimas, dentre elas a Ácido Fosfatídico Fosfatase (PAP). A enzima PAP catalisa a defosforilação do Ácido Fosfatídico (PA) para originar sn-1,2-diacilglicerol (DAG) e fosfato inorgânico. A DAG produzida na hidrólise de PA não é apenas um precursor direto de TAG, mas também um subtrato para a síntese da membrana fosfolipídica. Na síntese de glicerolipídios, a PAP aparece em ambas as formas: solúvel ou em partículas, sendo essa distribuição de acordo com o status do metabolismo celular. **(Figura 1)**

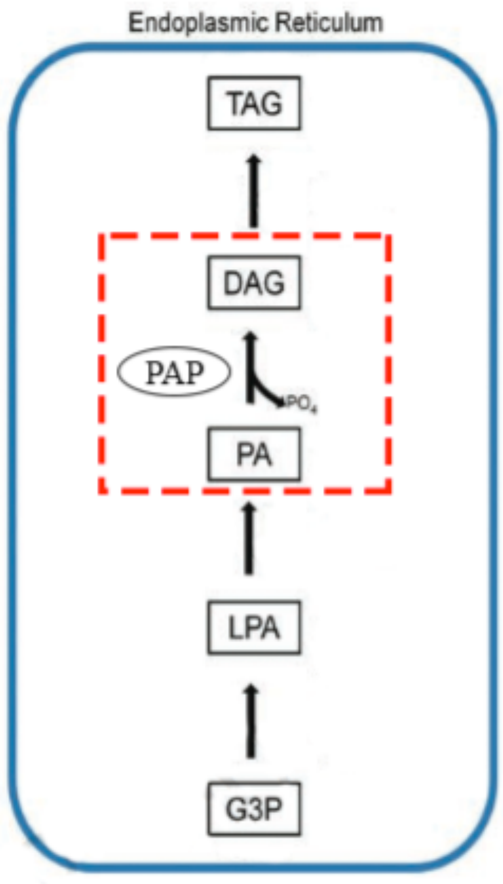

Figura 1. Representação do processo de formação de Triacilglicerol (TAG), no retículo endoplasmático em uma célula de alga. Está representado na parte destacada, o funcionamento da enzima Ácido Fosfatídico Fosfatase (PAP).

Objetivo

O objetivo do trabalho foi a identificação e análise filogenética da enzima Ácido Fosfatídico Fosfatase (PAP) e seu papel na formação de Triacilglicerois em algas.

Metodologia

Utilizando os genes codificantes da enzima PAP de *Arabidopsis thaliana* como íscas, foram realizadas buscas de BLAST (Blastx e Blastn) contra o banco de dados Phytozome *(http://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html)* por sequências ortólogas em seis espécies de microalgas com genoma sequenciado. Através da plataforma MEME, foi averiguado o nível de conservação dos domínios de todos os genes identificados. Buscou-se predizer a localização subcelular dessas proteínas através dos softwares Target P e WOLF, bem como a posição dos domínios transmembranas através dos programas TMHMM e TMPred. A árvore filogenética da família PAP foi inferida através do método de analise Bayesiana, utilizando o software BEAST.

Apoio

UERGS – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul
UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
FAPERGS – Fundação de Amparo a pesquisa do Rio Grande do Sul
CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Resultados e Discussão

Foram encontrados o total de 11 genes em microalgas referentes as iscas de *Arabidopsis thaliana.* **(Tabela 1)**

Espécie	Total
Chlamydomonas reinhardtii	2
Volvox carteri	3
Coccomyxa subellipsoidea C-169	2
Micromonas pusilla CCMP1545	1
Micromonas sp. RCC299	2
Ostreococcus lucimarinus	1
TOTAL	**11**

Tabela 1.

Na análise dos domínios, tem-se que essas regiões das proteínas são altamente conservadas, como mostra na figura a baixo. **(Figura 2)**

Figura 2. A altura total em cada pilha indica a sequência conservada em cada posição. A altura de cada letra é proporcional 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).

Com base nas pesquisas realizadas, foi inferido que a enzima Ácido Fosfatídico Fosfatase (PAP) tem, em sua totalidade, domínio indicados na membrana plasmatica. Segundo a bibliografia consultada, elas ficam na membrana do retículo endoplasmático, o qual não é captado pelos programas de predição utilizados pois eles se baseiam apenas nas características fisico-químicas de cada aminoacido. **(Tabela 2)**

GENE	PREDIÇÃO DA LOCALIZAÇÃO SUBCELULAR			TRANSMEMBRANA		PEPTÍDEO SINAL
	Target P		Cello	TMHMM	Phobius	Signal P
	Loc	Reliability				
Chlamydomonas reinhardtii .1	O	3	Plasma Membrane	4	6	Não
Chlamydomonas reinhardtii .2	S	2	Plasma Membrane	5	5	Não
Coccomyxa subellipsoidea C-169 .1	O	4	Plasma Membrane	3	6	Não
Coccomyxa subellipsoidea C-169 .2	S	5	Plasma Membrane	6	7	Não
Micromonas sp. RCC299 .1	S	4	Plasma Membrane	3	4	Não
Micromonas sp. RCC299 .2	M	4	Plasma Membrane	3	4	Não
Micromonas pusilla CCMP1545 .1	C	3	PM;CHLOROPLAST;NUCLEAR	x	x	Não
Ostreococcus lucimarinus .1	S	5	Plasma Membrane	6	?	Não
Volvox carteri .1	O	2	Plasma Membrane	6	6	Não
Volvox carteri .2	S	2	Plasma Membrane	5	5	Não
Volvox carteri .3	O	2	Plasma Membrane	5	6	Não

Tabela 2.

O resultado da árvore filogenética **(Figura 3)** nos mostra que os genes encontrados se dividem em dois grandes grupos. No grupo destacado em azul, está dois dos três genes encontrados de *Micromonas* que são mais semelhantes entre sí. O outro gene está localizado no grande grupo destacado em vermelho, que se divide em dois subgrupos. Um com algas semelhantes entre sí, e o subgrupo destacado em amarelo, que mostra as íscas utilizadas.

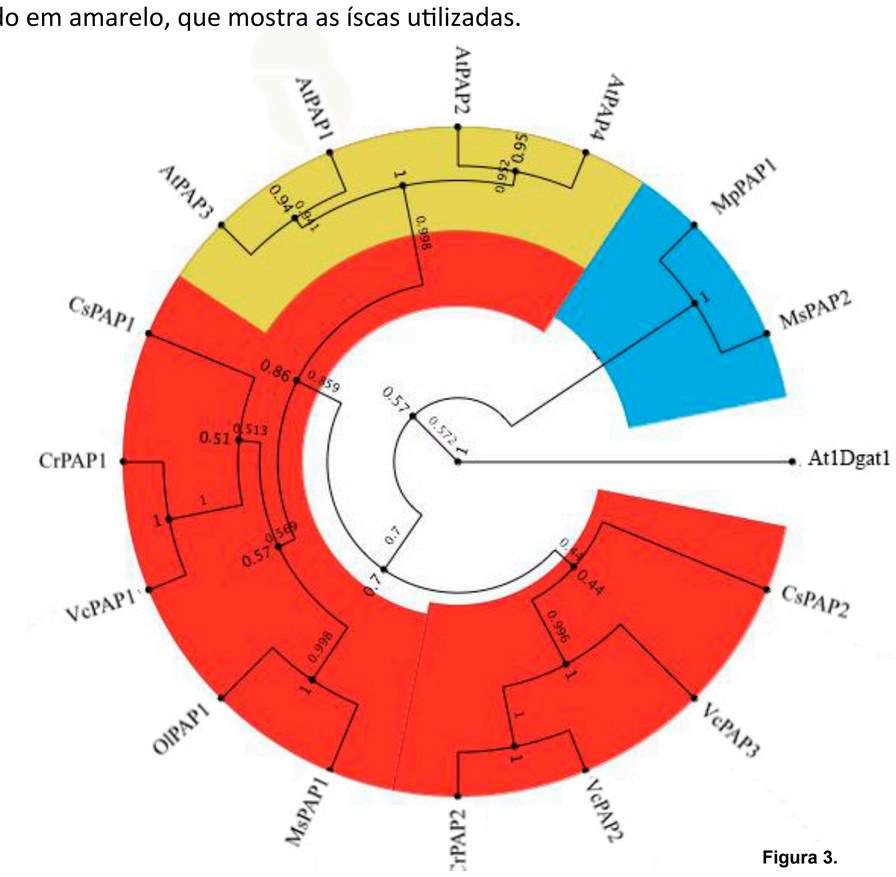

Figura 3.