

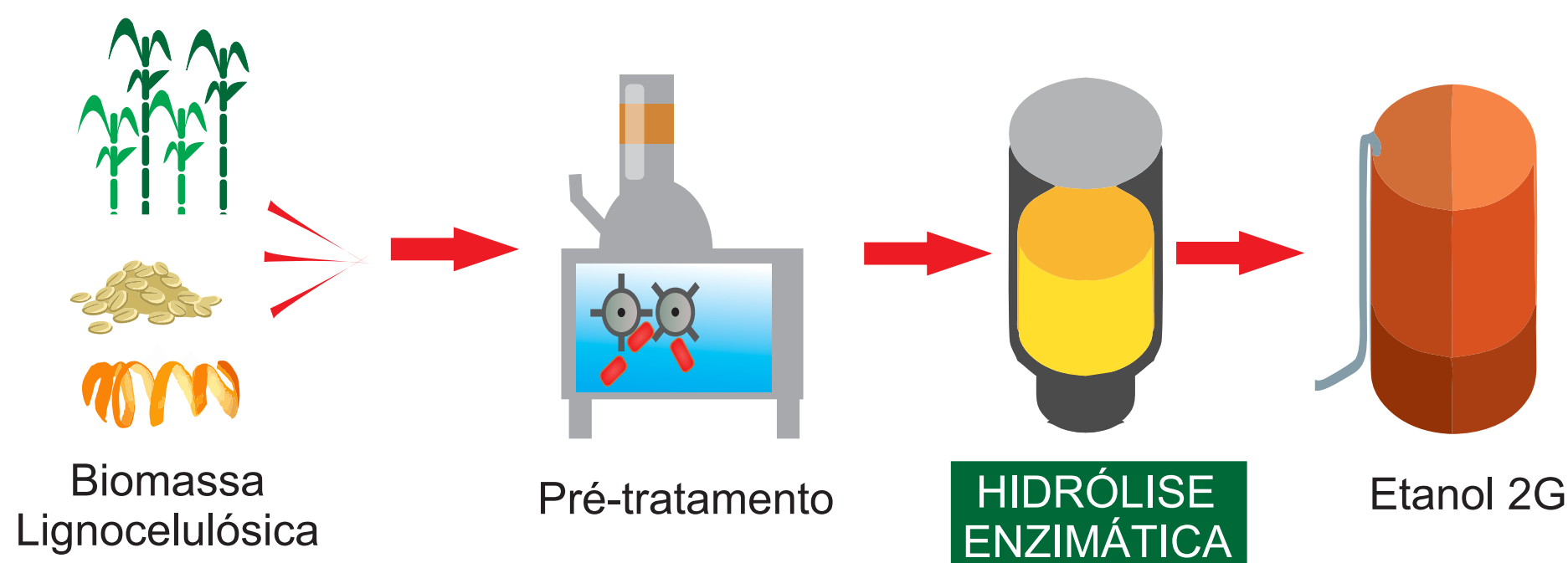
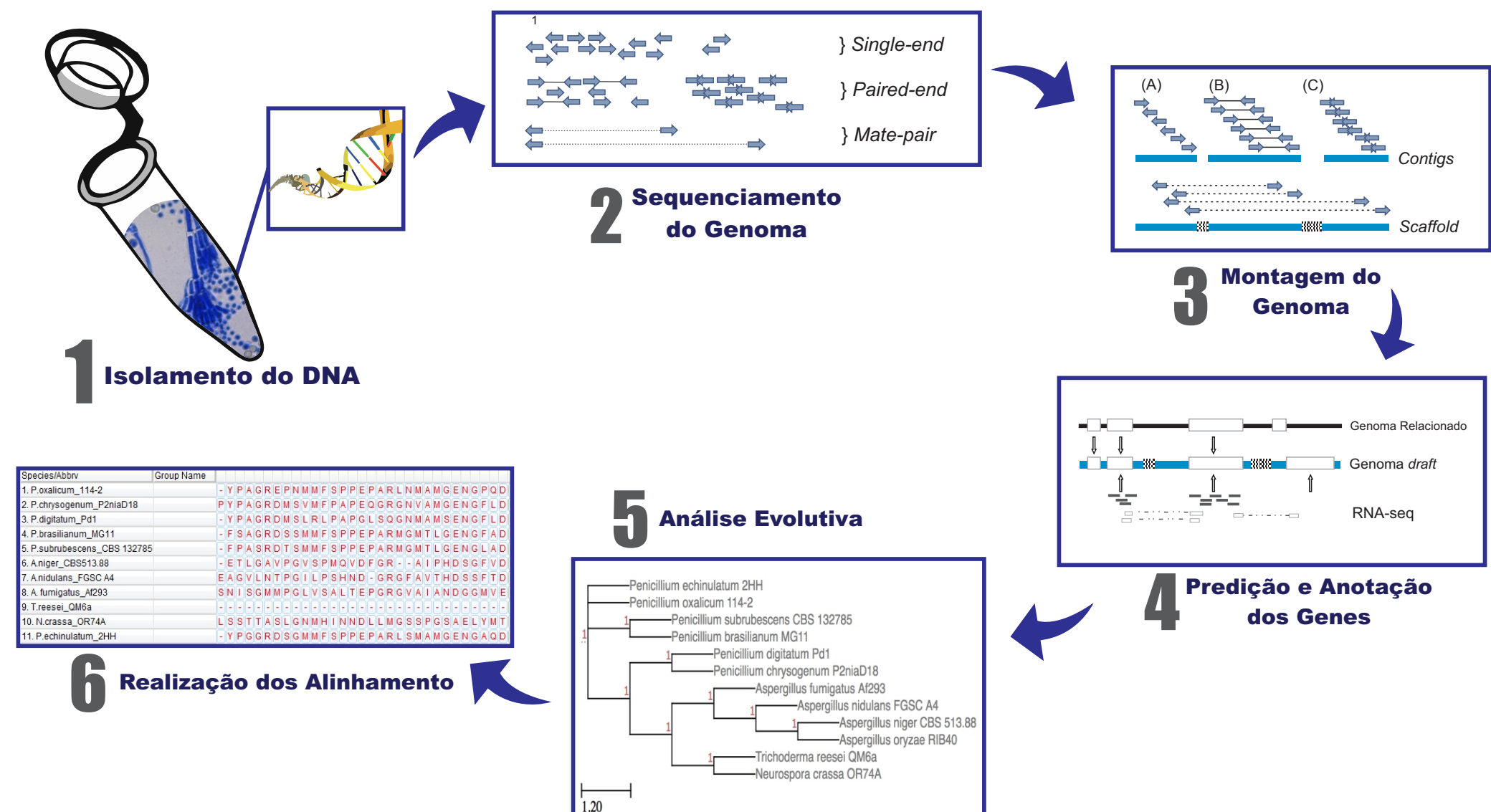
Caracterização de fatores de transcrição que regulam a expressão de enzimas lignocelulolíticas em *Penicillium echinulatum*.

Autora: Fernanda Pessi de Abreu (fpabreu1@ucs.br) - Orientadora: Scheila de Ávila e Silva (sasilva6@ucs.br)
Núcleo de Pesquisa em Bioinformática, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul (UCS), Caxias do Sul - RS.



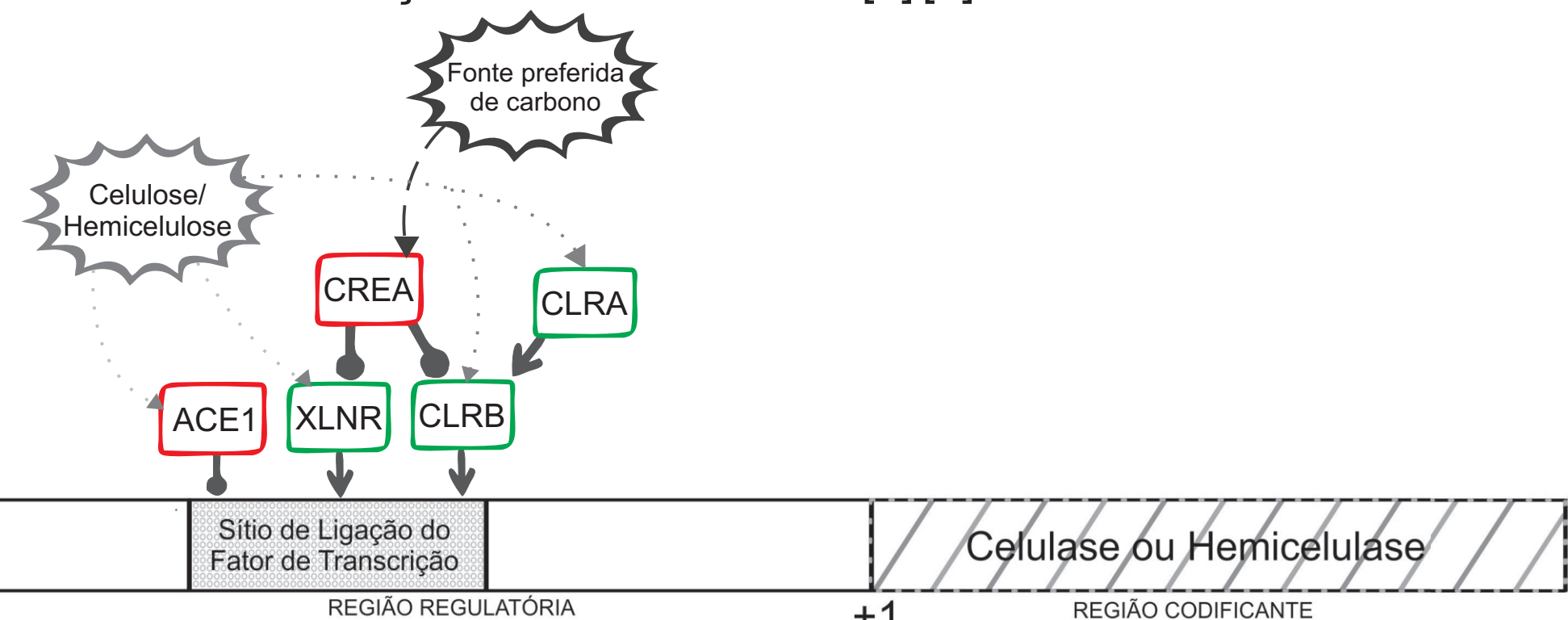
INTRODUÇÃO

Em razão do alto custo dos complexos enzimáticos, a etapa de hidrólise enzimática corresponde a 40% do total dos gastos no processo de produção de etanol 2G [1]. O fungo filamentoso *Penicillium echinulatum* é um eficiente degradador de biomassa lignocelulósica, devido ao potencial do seu sistema enzimático extracelular [2]. Uma grande variedade de enzimas CAZy é secretada pelo fungo, particularmente celulases e hemicelulases que são classificadas em famílias de glicosil hidrolases [3]. Essas enzimas atuam sinergicamente na degradação da parede celular vegetal. A hidrólise enzimática transforma a celulose, um polissacarídeo insolúvel, em unidades de glicose. Esse processo é importante para que a fermentação possa ocorrer, e por conseguinte a produção de etanol a partir de fontes alternativas de biomassa vegetal [4]. Nos mecanismos de regulação gênica estão envolvidos fatores de transcrição que regulam a expressão de enzimas lignocelulolíticas, dentre os quais destacam-se: CLRA, CLRB, ACE1, CREA e XLNR, que atuam na ativação ou repressão dos genes das enzimas lignocelulolíticas [5].



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em *P. oxalicum* os fatores de transcrição CLRA e CLRB são regulados por celulose e hemicelulose e regulam positivamente a transcrição de genes de celulases e hemicelulases, sendo CLRB o principal ativador de expressão de celulases. CREA é regulado pela fonte preferida de carbono, sendo o principal repressor da expressão de celulases e hemicelulases. Esse fator de transcrição atua de forma intermediária reprimindo a expressão de CLRB e XLNR. Já ACE1 é regulado por celulose e reprime a transcrição de genes de celulases e hemicelulases. A expressão de celulases e hemicelulases também é ativada pelo fator de transcrição XLNR, o qual é regulado por celulose e hemicelulose. São necessárias análises experimentais in vitro para comprovar a atuação dos respectivos fatores de transcrição em *P. echinulatum* [6] [7].



OBJETIVO

Caracterizar fatores de transcrição que regulam a expressão das enzimas lignocelulolíticas e analisar os genes ortólogos dos fatores de transcrição em relação a outros Ascomycetos.

METODOLOGIA

- * 1 Isolamento do DNA genômico de alto peso molecular.
- * 2 Sequenciamento do genoma através da plataforma Illumina HiSeq 2500.
- * 3 Filtragem dos reads paired-end do Illumina e montagem usando o programa SPAdes v3.11.0.
- * 4 A predição e anotação dos genes foi realizada utilizando o pipeline Funannotate v1.3.4. O genoma possui tamanho igual a 30,5 MB, foram preditas 8744 proteínas, sendo 132 anotadas como IPR07219: Fungal-specific TF domain e 162 anotadas como IPR01138: Fungal Zn(2)-Cys(6) binuclear cluster domain.
- * 5 A análise evolutiva dos principais fatores de transcrição foi feita utilizando as suas sequências de proteínas preditas além das proteínas ortólogas em outras 11 espécies de Ascomycota, cujas sequências foram extraídas do banco de dados Niprot e a ortologia foi verificada utilizando o software Proteinortho5 v5.16.b.
- * 6 Através do Software MEGA7 v7.0.26, opção Aling By Muscle, foram realizados os alinhamentos e os dendrogramas foram geradas pelo método de máxima verossimilhança com 1000 replicações.

* As etapas 1, 2, 3 e 4 foram realizadas anteriormente.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A caracterização dos fatores de transcrição é fundamental para compreender os mecanismos de regulação das enzimas lignocelulolíticas. Tornando possível a engenharia dos fatores de transcrição, bem como dos sítios de ligação dos mesmos nas regiões promotoras. Permitindo assim a potencialização da expressão gênica e a otimização da produção enzimática e tornando mais acessível o processo de hidrólise enzimática da biomassa lignocelulósica. A diminuição dos custos dos complexos enzimáticos é fundamental para alavancar a produção de biocombustível de segunda geração, contribuindo para transição energética global.

REFERÊNCIAS

- [1] LYND, L. R.; WEIMER, P. J.; ZYL, W. H.; PRETORIUS, I. S. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiol Mol Biol Rev*, v. 66, p. -, 2002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/MMBR.66.3.506-577.2002>.
- [2] RIBEIRO, D. A.; COTA, J.; ALVAREZ, T. M.; BRÜCHLI, F.; BRAGATO, J.; PEREIRA, B. M. P.; PAULETTI, B. A.; JACKSON, G.; PIMENTA, M. T. B.; MURAKAMI, M. T.; CAMASSOLA, M.; RULLER, R.; DILLON, A. J. P.; PRADILLA, J. G. C.; LEME, A. F. P.; SQUINA, F. M. The penicillium echinulatum secretome on sugar cane bagasse. *PLoS ONE*, Public Library of Science, v. 7, n. 12, p. e50571, dec 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0050571>.
- [3] SCHNEIDER, W. D. H.; GONÇALVES, T. A.; UCHIMA, C. A.; COUGER, M. B.; PRADIA, R.; SQUINA, F. M.; DILLON, A. J. P.; CAMASSOLA, M. Penicillium echinulatum secretome analysis reveals the fungi potential for degradation of lignocellulosic biomass. *Biotechnology for Biofuels*, BioMed Central, London, v. 9, p. 66, mar 2016. ISSN 1754-6834. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4794826/>.
- [4] WANG, Mingyu et al. Cellulolytic Enzyme Production and Enzymatic Hydrolysis for Second-Generation Bioethanol Production. *Biotechnology in China III: Biofuels and Bioenergy*, [s.l.], p. 1-24, 2012. Springer Berlin Heidelberg.
- [5] AMORE, Antonella; GIACOBBE, Simona; FARACO, Vincenza. Regulation of Cellulase and Hemicellulase Gene Expression in Fungi. *Current Genomics*, [s.l.], v. 14, n. 4, p. 230-249, 1 Jun. 2013. Bentham Science Publishers Ltd.
- [6] LIU, Guodong et al. Genomic and Secretomic Analyses Reveal Unique Features of the Lignocellulolytic Enzyme System of *Penicillium decumbens*. *Plos One*, [s.l.], v. 8, n. 2, p. 1-11, 1 fev. 2013. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0055185>.
- [7] LI, Zhonghai et al. Synergistic and Dose-Controlled Regulation of Cellulase Gene Expression in *Penicillium oxalicum*. *Plos Genetics*, [s.l.], v. 11, n. 9, p. 1-11, 11 set. 2015. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1005509>.