



**Universidade:
presente!**

UFRGS
PROPEAQ



XXXI SIC

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

Evento	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2019
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Caracterização bioquímica de homólogos de glutamina sintetase em <i>Paenibacillus sonchi</i> SBR5
Autor	ALVINA FERNANDA DE VARGAS
Orientador	LUCIANE MARIA PEREIRA PASSAGLIA

Título: Caracterização bioquímica de homólogos de glutamina sintetase em *Paenibacillus sonchi* SBR5

Autor(a): Alvina Fernanda de Vargas

Orientador(a): Profa. Dra. Luciane Maria Pereira Passaglia

Glutamina sintetase (GS) é uma enzima central no metabolismo de nitrogênio e apresenta papel primordial na biossíntese de L-glutamina e na assimilação de nitrogênio para a grande maioria das bactérias. Utilizando ATP, GS catalisa a reação que forma L-glutamina a partir do ácido L-glutâmico e amônia. A introdução de amônio no metabolismo celular é realizada pela GS e pela glutamato sintase, produzindo L-glutamina e L-glutamato. O gênero *Paenibacillus* é objeto de diversos estudos, porém ainda fazem-se necessárias mais análises genômicas devido à sua relevância, ampla distribuição, importante função nas comunidades microbianas e fixação do nitrogênio, observada em diversas espécies do gênero. Assim, eles são capazes de contribuir em distintos campos da biotecnologia. A bactéria *Paenibacillus riograndensis* (SBR5), sinônimo heterotípico de *P. sonchi* (X19-5^T), uma bactéria fixadora de nitrogênio isolada de trigo (*Triticum aestivum*), apresenta características peculiares quando comparada a outras do gênero. SBR5 contém três genes codificadores de proteínas homólogas à GS (nomeadas no presente estudo como "GSs like" - GSL1, GSL2 e GSL3). Este projeto visa a investigação das funções desses genes. As três proteínas (GSL1, GSL2, GSL3) foram expressas em *Escherichia coli* BL-21, utilizando o plasmídeo pASK-IBA3. A análise do gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) confirmou sua expressão. As proteínas foram purificadas por cromatografia de afinidade, utilizando-se o meio StrepTactinTM SepharoseTM High Performance (GE Healthcare), de acordo com as instruções do fabricante. Após purificação, as proteínas foram dialisadas, quantificadas pelo método de Bradford e armazenadas à -20°C para posterior análise. A atividade biossintética foi medida por método de colorimetria baseado na liberação de fosfato, resultado da hidrólise do ATP pela GS. Observou-se atividade das proteínas GSL1 e GSL2, 11,6 e 9,63 nmol Pi/min/μg de proteína, respectivamente. Com relação à GSL3 estudos filogenéticos paralelos indicam que ela não exibe atividade biossintética, de acordo com o resultado observado neste trabalho. Além disto, realizou-se um ensaio para verificação de atividade tendo como substrato poliaminas em substituição ao amônio, tendo em vista a possível similaridade das GS's em questão com outras proteínas já pesquisadas. Dessa maneira, em reações contendo isopropilamina, etanolamina, espermidina e putrescina, verificou-se atividade baixa para GSL2 e intermediária para GSL3 e GSL1. Assim, será necessário otimizar as condições do procedimento para que seja obtida avaliação mais precisa. Conclui-se, portanto, que das três GSs-like codificadas no genoma de SBR5, duas são GSs funcionais. A potencial atividade da terceira GS-like ainda está sob investigação. Além do observado, será avaliada a modulação das proteínas que apresentaram atividade biossintética de GS, testando-se prováveis inibidores como glicina, histidina, alanina, ácido p-aminobenzóico, arginina, asparagina e cisteína.