

PIBIC - CNPq

## Análise de elementos reguladores de celulases de *Penicillium echinulatum*: mapeamento *in silico* de sítios de ligação de fatores de transcrição e promotores-núcleo.

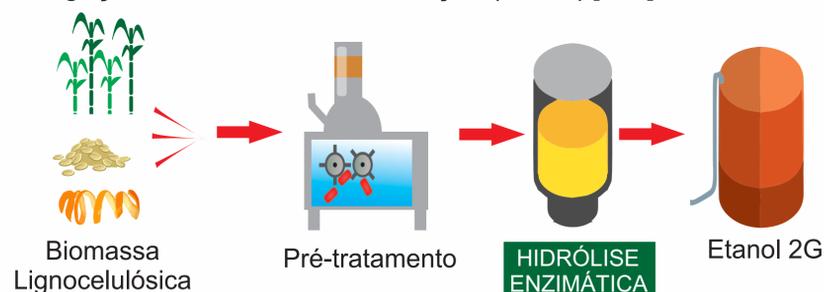


Autora: Fernanda Pessi de Abreu<sup>1</sup> (fpabreu1@ucs.br) - Orientadora: Scheila de Ávila e Silva<sup>1</sup> (sasilva6@ucs.br)  
Coautores e Coorientadores: Alexandre Rafael Lenz<sup>1,2</sup> (arlenz@ucs.br), Nikael Souza de Oliveira<sup>1</sup> (nsoliveira4@ucs.br),  
Eduardo Balbinot<sup>1</sup> (ebalbinot@ucs.br), Marli Camassola<sup>1</sup> (mcamassola@ucs.br) e Aldo José Dillon<sup>1</sup> (ajpdillo@ucs.br).

<sup>1</sup>Núcleo de Pesquisa em Bioinformática, Instituto de Biologia, Universidade de Caxias do Sul (UCS), Caxias do Sul - RS. <sup>2</sup>Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Salvador - BA.

### INTRODUÇÃO

A eficiente degradação dos resíduos de biomassa lignocelulolítica, utilizados na produção do etanol de segunda geração (2G), requer a etapa de hidrólise enzimática [1]. O coquetel enzimático necessário é composto por enzimas CAZy que, por seu alto custo, limita a produção do biocombustível [2]. O fungo filamentoso *Penicillium echinulatum* destaca-se por sua capacidade de produção de enzimas CAZy, sendo alvo de pesquisas biotecnológicas que visam a concepção de linhagens hiperprodutoras de coquetéis enzimáticos [3, 4]. Uma forma para aumentar a produção enzimática é a análise da regulação gênica que pode ocorrer a nível transcricional, etapa na qual estão envolvidos elementos regulatórios como os promotores-núcleo, essenciais para o processo da transcrição, e os sítios de ligação dos fatores de transcrição (TFBS) [5, 6].



### OBJETIVO

Identificar *in silico* os TFBS e os promotores-núcleo dos genes das enzimas: bgl1 (beta-glucosidase), cbh1 (celobiohidrolase), egl1 e egl2 (endoglicanases).

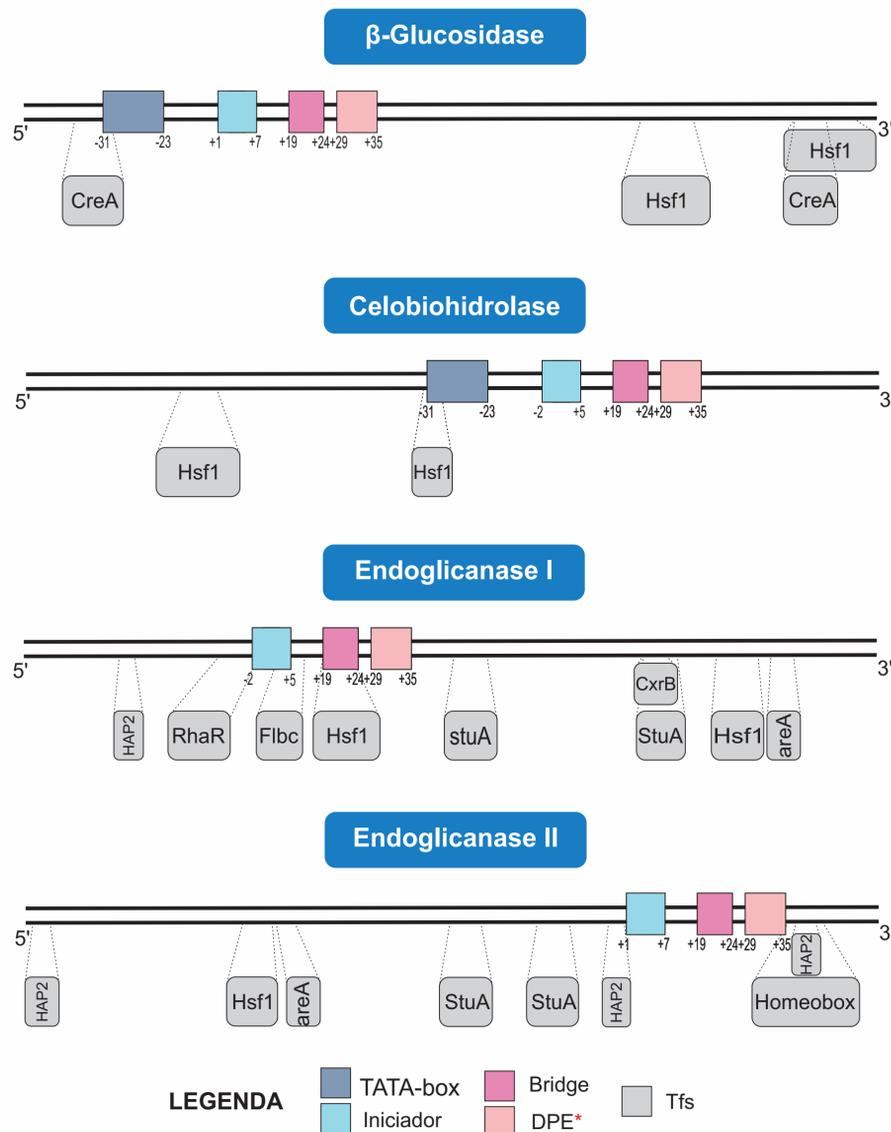
### METODOLOGIA

- 1 Extração das sequências promotoras compreendidas entre -200 upstream e +40 downstream em relação ao códon de iniciação de gene.
- 2 Predição dos elementos promotores-núcleo utilizando a ferramenta *Element* [7].
- 3 Predição dos TFBS pela ferramenta TFTools, utilizando os fatores de transcrição (TFs) disponíveis no CIS-BP Database do fungo *P. oxalicum* devido à sua proximidade filogenética a *P. echinulatum* [8].

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram preditos TFBS de nove TFs reguladores de celulases verificados em *P. oxalicum*: CreA, Hsf1, CxrB, Flbc, HAP2, RhaR, StuA, AreA e Homeobox. Em bgl1, foi identificado o TFBS de CreA (regulador negativo). Já CxrB (regulador positivo) foi predito nas sequências promotoras de cbh1 e egl2. Hsf1 (Heat-shock - regulador de stress) foi identificado em todos os genes. Os TFs preditos pela ferramenta, já caracterizados em *P. oxalicum*, sugerem que diversos motivos de ligação permanecem conservados entre as duas espécies. A ferramenta *Element* identificou promotores-núcleo como TATA-box, Iniciador, Bridge e DPE\*. Os elementos TATA-box, em cbh1, e Iniciador, em egl2, apresentaram PWM-score máximo, indicando a conservação das sequências promotoras presentes em eucariotos [9, 10].

Os elementos encontrados pelas ferramentas foram:



\*O elemento DPE não é caracterizado na literatura como promotor-núcleo em fungos. No entanto, as sequências preditas pela ferramenta podem representar outro elemento promotor ainda não elucidado.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

O mapeamento *in silico* dos elementos regulatórios é crucial para concepção de linhagens hiperprodutoras de enzimas, já que a identificação de alvos potenciais reduz custos, impactando na otimização da produção enzimática e na produção de etanol 2G, contribuindo para transição energética global.

### REFERÊNCIAS

- [1] ABO, Bodjui Olivier *et al.* Lignocellulosic biomass for bioethanol: an overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation processes. *Reviews on Environmental Health*, [s.l.], v. 34, n. 1, p.57-68, 26 mar. 2019. Walter de Gruyter GmbH.
- [2] LYND, L. R., *et al.* Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiol Mol Biol Rev*, v. 66, p. -, 2002.
- [3] RIBEIRO, D. A. *et al.* The penicillium echinulatum secretome on sugar cane bagasse. *PLoS ONE*, Public Library of Science, v. 7, n. 12, p. e50571-, dec 2012.
- [4] SCHNEIDER, W. D. H.; *et al.* 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.
- [5] ALBERTS, Bruce *et al.* *Biologia molecular da célula*, 6th edição. Artmed Editora, 2017.
- [6] SUKUMARAN, R. K.; SINGHANIA, R. R.; PANDEY, A. Microbial cellulases - Production, applications and challenges. *Journal of Scientific & Industrial Research*, v. 64, p.832-844, fev. 2005.
- [7] SLOUTSKIN, Anna *et al.* *Element*: a computational tool for detecting core promoter elements. *Transcription*, [s.l.], v. 6, n. 3, p.41-50, 27 maio 2015. Informa UK Limited.
- [8] WEIRAUCH, Matthew t. *et al.* Determination and Inference of Eukaryotic Transcription Factor Sequence Specificity. *Cell*, [s.l.], v. 158, n. 6, p.1431-1443, set. 2014. Elsevier BV.
- [9] SMALE, S. T.; BALTIMORE, D. The "initiator" as a transcription control element. *Cell*, Elsevier, v. 57, n. 1, p. 103-113, 1989. ISSN 0092-8674.
- [10] DECKER, K. B.; HINTON, D. M. Transcription regulation at the core: Similarities among bacterial, archaeal, and eukaryotic rna polymerases. *Annu. Rev. Microbiol., Annual Reviews*, v. 67, n. 1, p. 113-139, set. 2013. ISSN 0066-4227.