

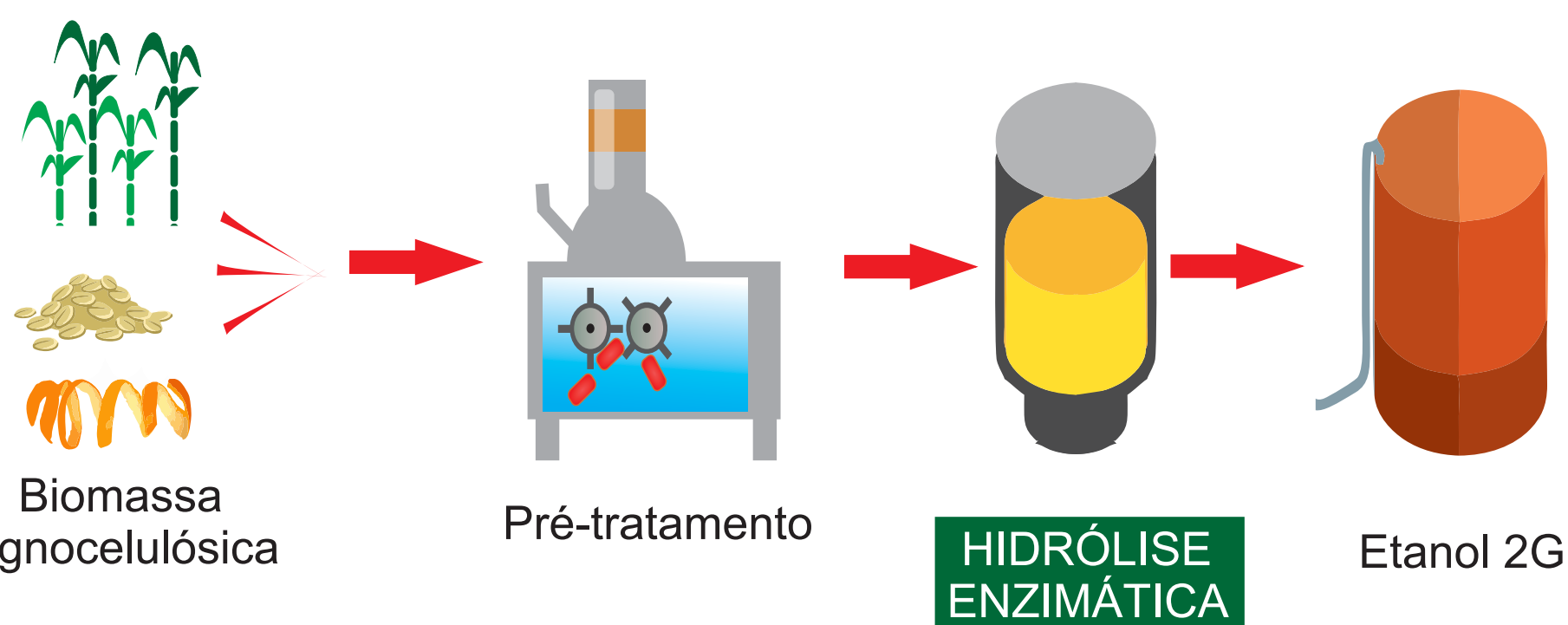


Anotação e curadoria das Glicosil Hidrolases família 5 de *Penicillium echinulatum*: linhagens 2HH e S1M29.

Autor: Nikael de Souza de Oliveira (nsoliveira4@ucs.br) - Orientadora: Scheila de Ávila e Silva (sasilva6@ucs.br)
Coautores e Coorientadores: Fernanda Pessi de Abreu (fpabreu1@ucs.br), Alexandre Rafael Lenz¹ (arlenz@ucs.br), Marli Camassola (mcamasso@ucs.br) e Aldo José Dillon¹ (ajpdillo@ucs.br)
¹Núcleo de Pesquisa em Bioinformática, Instituto de Biologia, Universidade de Caxias do Sul (UCS), Caxias do Sul - RS. ²Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Salvador - BA.

INTRODUÇÃO

O etanol de 2ª geração (2G) é uma fonte de energia renovável produzida a partir da celulose presente em resíduos agroindustriais [1][2]. A celulose é uma molécula estrutural e de difícil hidrólise, necessitando de um conjunto de enzimas específicas capazes de degradar a biomassa vegetal [2]. Devido ao alto custo dos complexos enzimáticos, a etapa de hidrólise enzimática corresponde a 40% do custo total da produção deste biocombustível [3]. O fungo *Penicillium echinulatum* é um eficiente degradador de biomassa lignocelulósica, pois secreta grande diversidade de enzimas ativas em carboidratos (CAZy) [4][5]. Dentre elas, destacam-se as Glicosil Hidrolases ou GHs (EC 3.2.1.-), um grupo de enzimas que hidrolisam ligações glicosídicas [6].



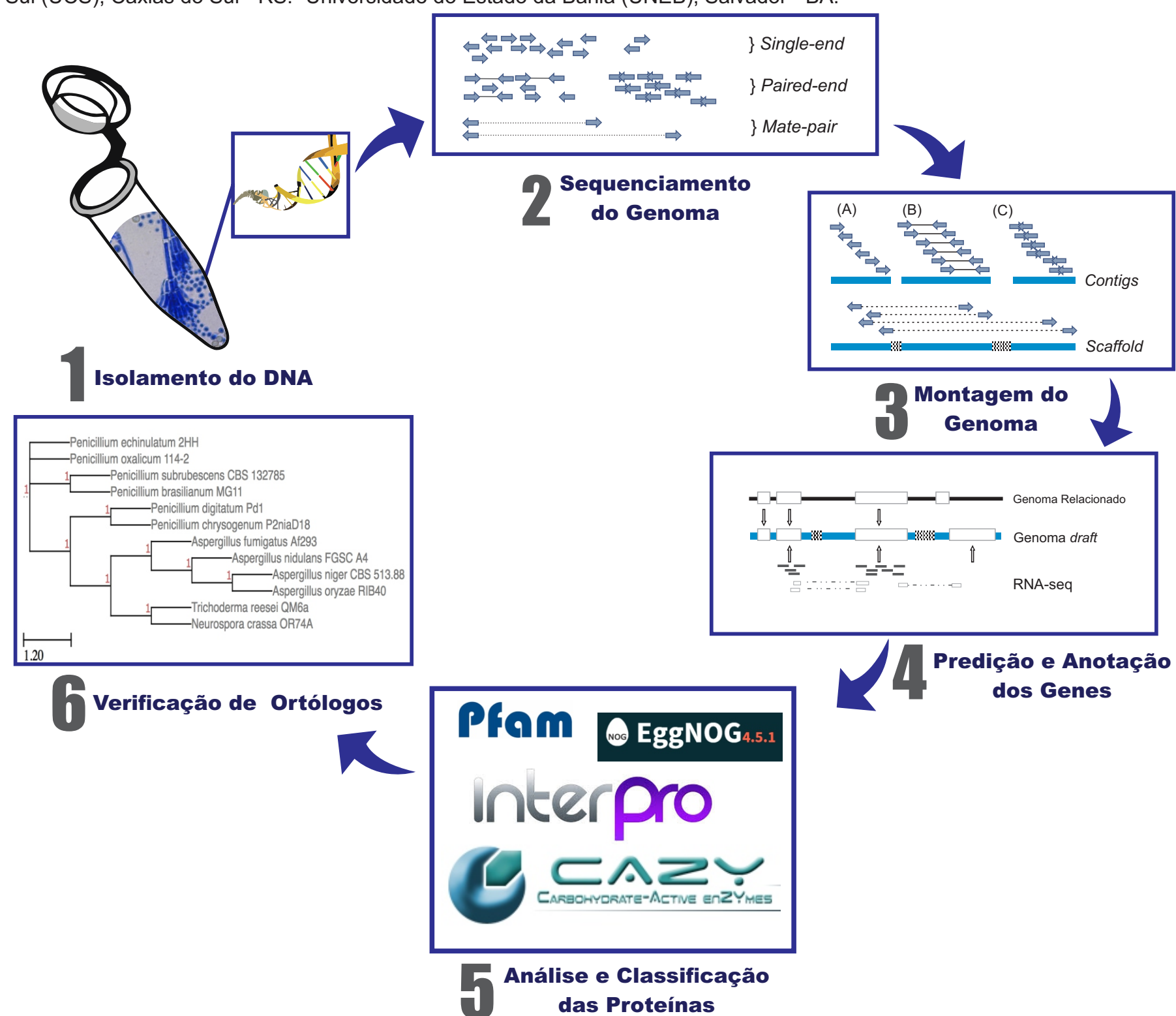
OBJETIVO

Anotação e curadoria dos genes que sintetizam as enzimas GHs da família 5 (GH5), na linhagem selvagem 2HH e mutante S1M29 do fungo *Penicillium echinulatum*.

METODOLOGIA

- * 1 Isolamento do DNA genômico de alto peso molecular.
- * 2 Sequenciamento do DNA das duas linhagens utilizando a plataforma Illumina HiSeq 2500.
- * 3 Montagem do genoma utilizando o software SPAdes v.3.11.02.
- * 4 Predição e anotação automática dos genes utilizando o pipeline Funannotate, resultando em 8941 genes preditos.
- 5 Análise e classificação das proteínas preditas a partir de bancos de dados como PFAM, INTERPRO, CAZY, EGGNOG E SWISSPROT.
- 6 Verificação de ortólogos, utilizando organismo de referência filogeneticamente próximos para auxiliar na identificação da função de cada proteína.

As etapas 1, 2, 3 e 4 foram realizados anteriormente pelo grupo de pesquisa.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificadas 14 proteínas preditas pertencentes à família GH5. Tanto na linhagem 2HH quanto na linhagem S1M29 encontram-se as mesmas enzimas com suas sequências idênticas. A curadoria manual resultou em:

1	β -1,3-mannanase	3.2.1.
1	Endoglycosylceramidase	3.2.1.123
1	Glucan endo-1,6- β -glucosidase	3.2.1.75
2	Mannan endo-1,4- β -mannosidase	3.2.1.78
3	Glucan 1,3- β -glucosidase	3.2.1.58
6	Endo-1,4- β -D-glucanase	3.2.1.4

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A informação gerada pela curadoria das GH5 contribui para o conhecimento dos genes e funções no organismo em questão. Este conhecimento pode vir a auxiliar na otimização do processo de produção de enzimas para hidrólise de biomassa lignocelulósica a partir da engenharia genética do fungo, diminuindo os custos e promovendo ações fundamentais para alavancar a produção de etanol 2G, contribuindo para a transição energética global.

REFERÊNCIAS

- [1] Bon, E.P.S.; Gírio, F.; Pereira Jr., N.; (2008b). Enzimas na produção de etanol. In: Bon, E.P.S.; Ferrara, M.A.; Corvo, M.L. (Coord.). Enzimas em biotecnologia: produção, aplicações e mercado. 1 ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência. pp 241-271.
- [2] Ângelo, R.S. (2004). Enzimas hidrolíticas. In: Esposito, E.; Azevedo, J.L. (Coord.). Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia. 1 ed. Caxias do Sul: EDUCS. pp 261-285.
- [3] 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.
- [4] 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.; PRADELLA, 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.
- [5] SCHNEIDER, W. D. H.; GONÇALVES, T. A.; UCHIMA, C. A.; COUGER, M. B.; PRADE, 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.
- [6] CAZY. Carbohydrate Active Enzymes database. 2016.