

C. Ciências Biológicas - 8. Genética - 2. Genética de Microorganismos

Alinhamento estrutural e filogenia molecular da proteína prnB

Thatyane Nunes Barreto Lima ¹

Phellippe Arthur Santos Marbach ²

1. Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas - UFRB.

2. Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas - UFRB □ Orientador.

INTRODUÇÃO:

A pirrolnitrina é um antibiótico produzido por vários gêneros de bactérias incluindo *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Serratia* e *Myxococcus* que colonizam as raízes de plantas e produzem antibióticos que restringem a atividade de fitopatógenos e/ou microrganismos deletérios. O interesse por estas bactérias é crescente devido à grande demanda por tecnologias limpas que viabilizem a agricultura sustentável. A biossíntese de pirrolnitrina foi elucidada em *Pseudomonas fluorescens* BL915. De acordo com tais estudos a síntese deste antibiótico é realizada por quatro enzimas, produtos dos genes *prnA*, *prnB*, *prnC* e *prnD*. Conforme resultados de análises genômicas prévias, a distribuição do gene *prnB* e seus homólogos está restrita a grupos de micro-organismos que possuem espécies produtoras deste antibiótico como δ , β e γ -proteobactérias. Isto sugere que a biossíntese deste antibiótico evoluiu no ancestral destas bactérias. Portanto, compreender a evolução deste gene é um passo fundamental na construção de uma ampla compreensão da evolução e diversidade da via biossintética de pirrolnitrina. O objetivo deste trabalho foi reconstruir a história evolutiva do gene *prnB* e seus homólogos bacterianos.

METODOLOGIA:

A sequência de aminoácidos da *prnB* de *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 foi utilizada como query na busca por sequências homólogas de proteínas e de nucleotídeos nas bases de dados do NCBI. Esta etapa do trabalho foi realizada com o auxílio do programa BLASTP. O programa MEGA3 foi utilizado para fazer o alinhamento múltiplo das sequências de nucleotídeos. A edição manual deste alinhamento foi feita tendo como referências (i)os alinhamentos múltiplos realizados nos programas ClustalX (com as matrizes de substituição, Gonnet, BLOSUM e PAM) e MUSCLE; (ii)o alinhamento estrutural da *prnB* de *Pseudomonas fluorescens* e seu homólogo de *Shewanella oneidensis*. Este último foi realizado com o auxílio do programa TopMatch e usado para inferir as relações de homologia das estruturas secundárias da *prnB* e seus homólogos. O alinhamento múltiplo editado foi utilizado para fazer a reconstrução filogenética da *prnB* pelo método de distância (neighbor-joining) utilizando o programa ClustalX.

RESULTADOS:

O alinhamento estrutural indica que a *prnB* compartilha 73,3 % das suas estruturas secundárias com seu homólogo de *Shewanella oneidensis*. Este nível de similaridade também é observado na topologia da estrutura terciária destas proteínas. De acordo com análise filogenética as sequências de nucleotídeos homólogas à *prnB* formam dois clados distintos, indicando que tiveram origem em um evento de duplicação gênica. A *prnB* dos organismos produtores de pirrolnitrina estão em um único clado que possui topologia congruente com a filogenia das proteobactérias, ou seja, γ -proteobactérias compartilham um ancestral em comum com as β -proteobactérias antes de compartilharem um ancestral com as δ -proteobactérias. Estes resultados, associados à distribuição do gene *prnB* nos genomas procarióticos, sugerem que a via Biossintética de pirrolnitrina evoluiu dentro do grupo das proteobactérias.

CONCLUSÃO:

- Os genes *prnB* presentes em bactérias produtoras de pirrolnitrina formam um clado monofilético;
- A topologia da árvore filogenética do gene *prnB* é congruente com a filogenia das proteobactérias.

Palavras-chave: pirrolnitrina, filogenia, alinhamento.