



## Análise proteômica e genética reversa revelam a importância da proteína glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) para a resistência ao estresse por sacarose em *Gluconacetobacter diazotrophicus*

Júlia Rosa Moreira, Mariana Ramos Leandro, Luciano Vespoli, Leandro Fernandes Andrade, Gonçalo Apolinário de Souza Filho

*Gluconacetobacter diazotrophicus* é uma bactéria endofítica promotora do crescimento vegetal (BPCV) capaz de crescer na presença de metais pesados e em altas concentrações de sacarose. O sequenciamento do genoma de *G. diazotrophicus* permitiu identificar genes importantes relacionados ao seu estilo de vida endofítico. O gene *zwf*, que codifica a proteína glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), está relacionado ao metabolismo da glicose. Embora essa via seja importante para a resposta osmótica e oxidativa em algumas bactérias, a relação com a resistência a estresses ambientais em *G. diazotrophicus* ainda precisa ser melhor explorada. Diante disso, o presente trabalho investigou, por meio de mecanismos moleculares, a importância da proteína G6PD para resistência de *G. diazotrophicus* a estresses osmóticos e à metais tóxicos. A análise proteômica comparativa investigou a regulação de G6PD em *G. diazotrophicus* quando cultivada em meio DYGS na presença de 3,5 mM de  $ZnCl_2$ , 0,12 mM de  $CdCl_2$ , 2,5 mM de  $CoCl_2$ , 350 mM de PEG, 150 mM de NaCl e 600 mM de sacarose. A análise de genética reversa foi realizada para avaliar o papel da via do metabolismo de glicose na resistência aos estresses citados anteriormente, através da inativação do gene *zwf* de *G. diazotrophicus*. As análises proteômicas mostraram que a proteína G6PD foi induzida em todas as condições de estresse. Esse resultado indica que em condições estressantes a célula requer mais energia, por isso intensifica o metabolismo de glicose. Além disso, no caso do meio contendo sacarose seria necessário que todo excesso de açúcar fosse processado, para não prejudicar a bactéria. A análise de genética reversa revelou que a ausência de *zwf* afetou a resistência da bactéria a sacarose. A G6PD é a primeira enzima da via oxidativa de pentose fosfato (PP) e desempenha um papel central entre essa via e a da glicólise, durante o catabolismo da glicose. Dessa forma, a ausência do gene *zwf* impede que o açúcar seja apropriadamente metabolizado. O mutante *zwf* não demonstrou aumento de sensibilidade aos demais estresses. Isso permite hipotetizar que, em condições onde a concentração de açúcar seja convencional, o mutante  $\Delta zwf$  utiliza uma via metabólica alternativa para oxidação da glicose. Algumas bactérias, sob certas condições ambientais, são capazes de utilizar a via oxidativa direta de glicose por meio da glicose desidrogenase (GDH) ligada à pirroloquinolina-quinona (PQQ), independente da via de PP. Diante desses resultados, conclui-se que a proteína G6PD é importante para resistência a estresses ambientais em *G. diazotrophicus* com ênfase ao estresse por altas concentrações de açúcar.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: UENF - PGBV

Fomento da bolsa (quando aplicável): UENF, FAPERJ, CAPES, CNPq e FINEP,