



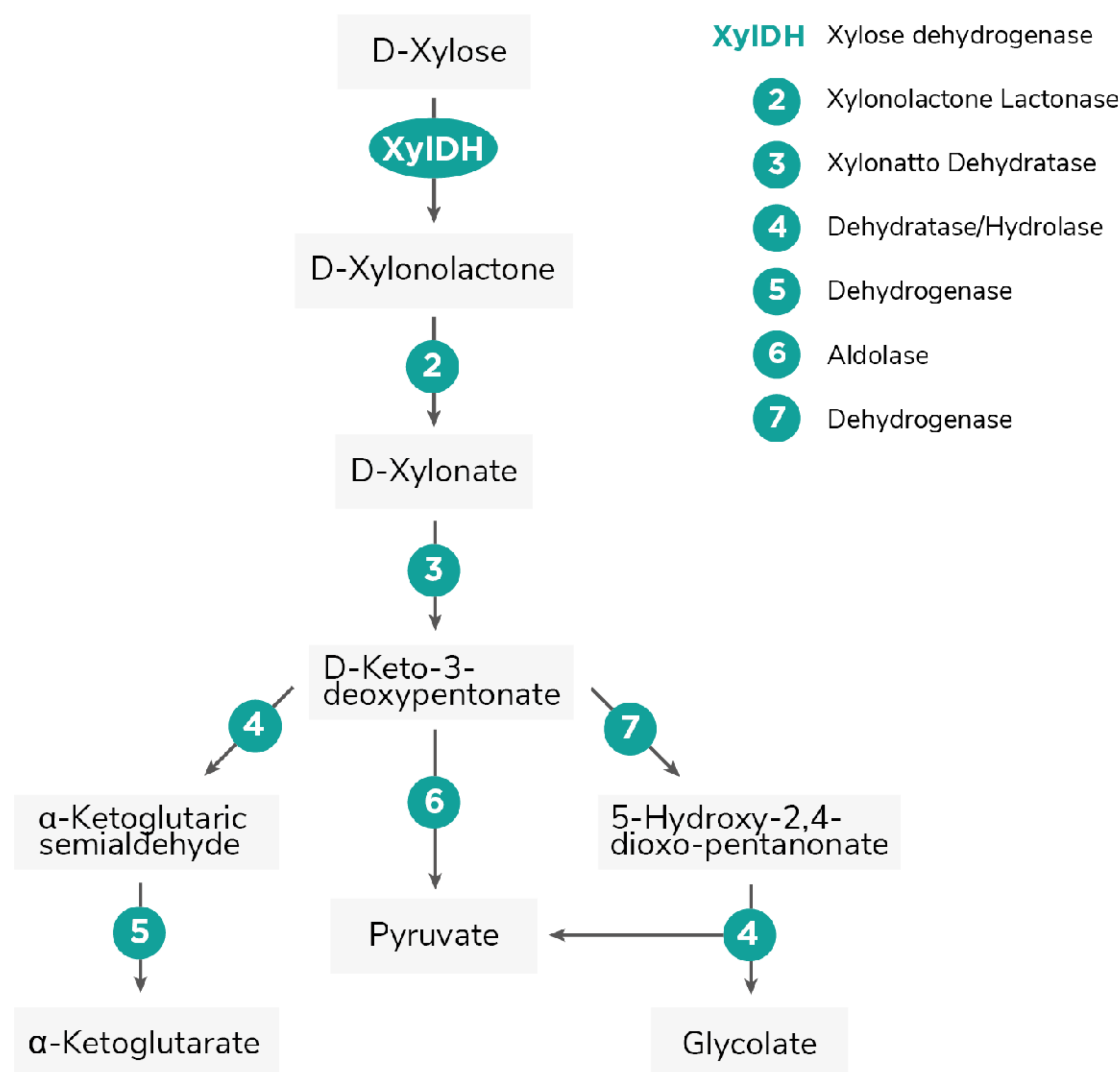
## A ampla distribuição de XylIDH no subfiló Saccharomycotina sugere um novo elemento para o metabolismo da xilose em leveduras

André Piffer<sup>\*1</sup>, Juliana Pimentel Galhardo<sup>12</sup>, Guilherme Borelli<sup>12</sup>, Duguay Rodrigues Monteiro da Silva<sup>1</sup>, Mateus Bernabe Fiamenghi<sup>12</sup>, Gonçalo Amarante Guimarães Pereira<sup>12</sup>, Juliana José<sup>12</sup>

### Motivações

O uso do petróleo e seus derivados é a principal fonte de energia para todos os setores da economia brasileira e mundial, porém o uso desses derivados libera compostos como dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e metano. A busca por fontes de energia menos poluentes que os derivados do petróleo levou ao interesse na produção de etanol de segunda geração a partir da hemicelulose, material abundante no bagaço da cana-de-açúcar, que se quebra em xilose. Porém a xilose não é naturalmente consumida pelas leveduras industriais utilizadas na fermentação alcoólica.

Nesse trabalho prospectamos e caracterizamos *in silico* as enzimas de uma possível via alternativa de consumo até o momento desconhecida em leveduras e comum em bactérias, sendo essa via a da enzima Xilose Desidrogenase (XylIDh). Na figura a seguir esta representada a via descrita em bactérias.

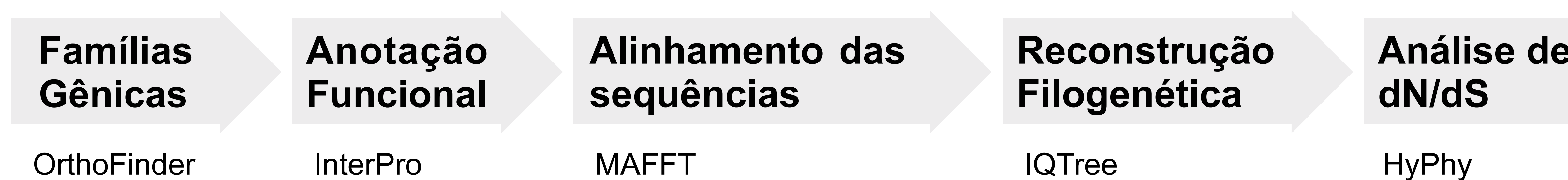


A figura apresenta a via descrita em bactérias com suas 3 possíveis ramificações finais.



## Conjunto de dados e Pipeline

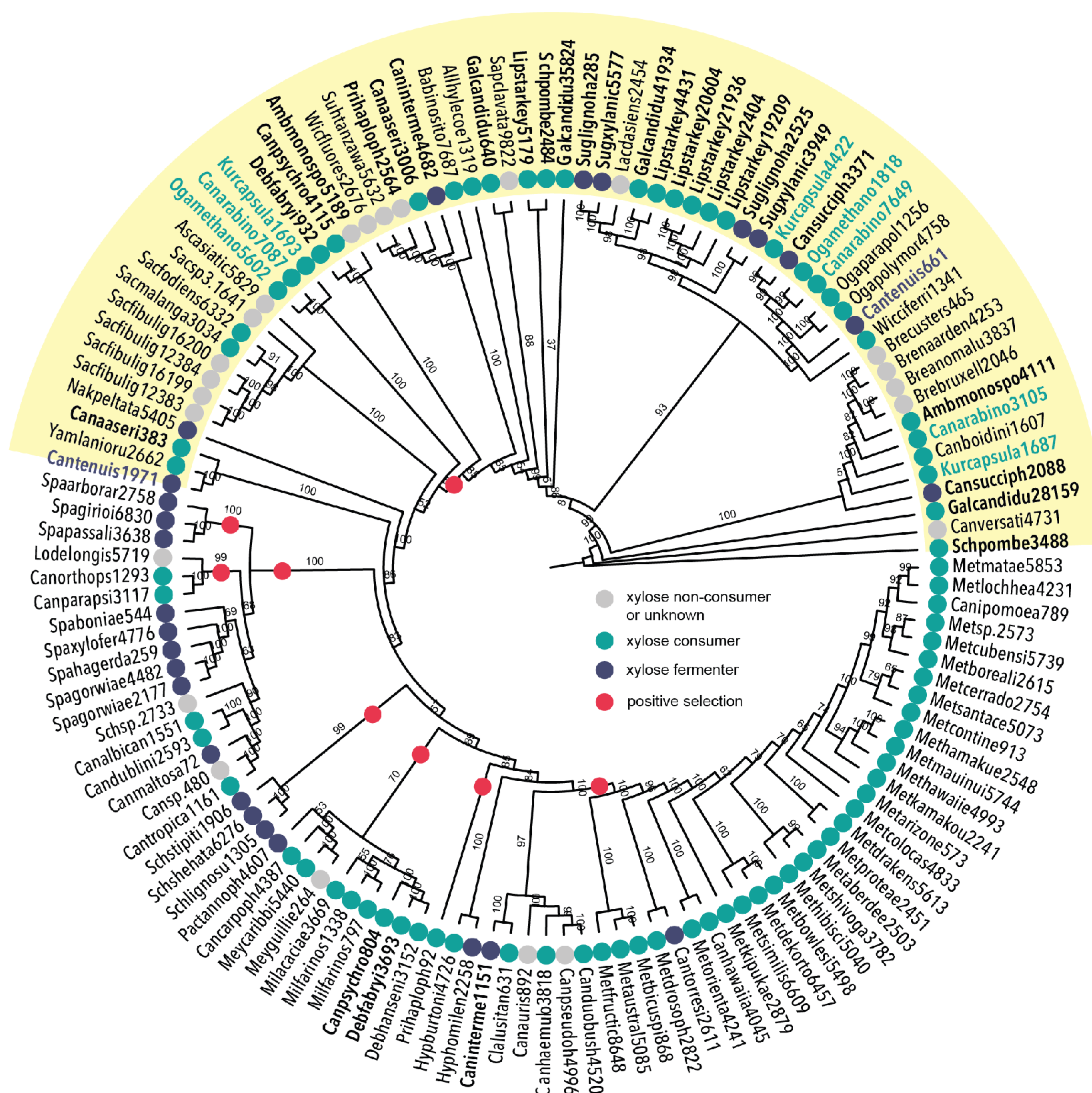
Foram utilizados 183 genomas públicos contendo espécies fermentadoras e não fermentadoras de xilose. As análises realizadas estão apresentadas no pipeline abaixo.



Resultados preliminares mostraram que a todas as 147 cópias da enzima XylDh estavam em uma única família genica e estavam presentes em 106 dos 183. Ao procurar as outras enzimas da via de bactérias poucas foram encontradas em leveduras e apenas 7 das 183 estudadas possuíam a via completa.

## Evolução da XylDh

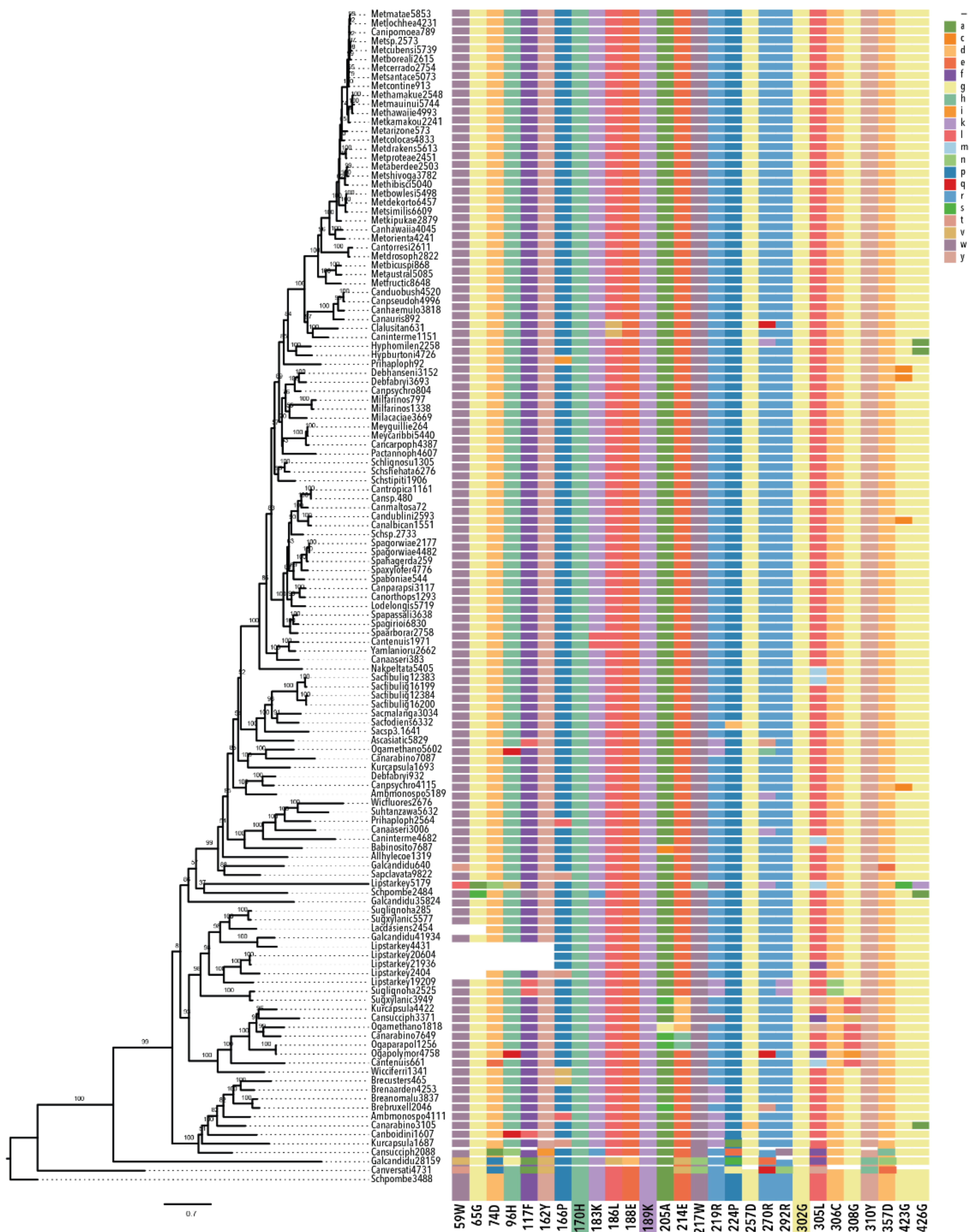
A história evolutiva da Xilose Desidrogenase começou com o alinhamento global das sequências proteicas com o software MAFFT e em seguida a filogenia foi reconstruída com utilizando o IQTree. Na filogenia, representada na figura a baixo, é possível perceber uma grande quantidade de genes parálogos, evidenciada pela seção em amarelo. Também é possível observar a existência de 3 pequenos clados de espécies fermentadoras, todas com cópias únicas do gene e precedidas de ramos com evidencia de seleção positiva, marcada por círculos vermelhos, apontados pelo método aBSREL do programa HyPhy. O método aBSREL testa para cada ramo da filogenia se uma proporções de sítios evoluíram sob seleção positiva.



**Filogenia para genes XylDh no subfilo Saccharomycotina.** A árvore foi reconstruída por métodos de máxima verossimilhança no IQTree com 1000 bootstraps para suporte de ramos. O comprimento do ramo é igualmente dimensionado como cladograma para melhorar a visualização. Os genes de espécies com mais de uma cópia da xilose desidrogenase estão em negrito. O destaque amarelo indica um enriquecimento de clados com parálogos profundos.



O segundo método utilizado foi o MEME, que visa detectar sítios evoluindo sob seleção positiva sob uma proporção de ramos. O MEME evidenciou 28 sítios conservados em mais de 90% das proteínas e 3 sítios conservados em 100% delas.



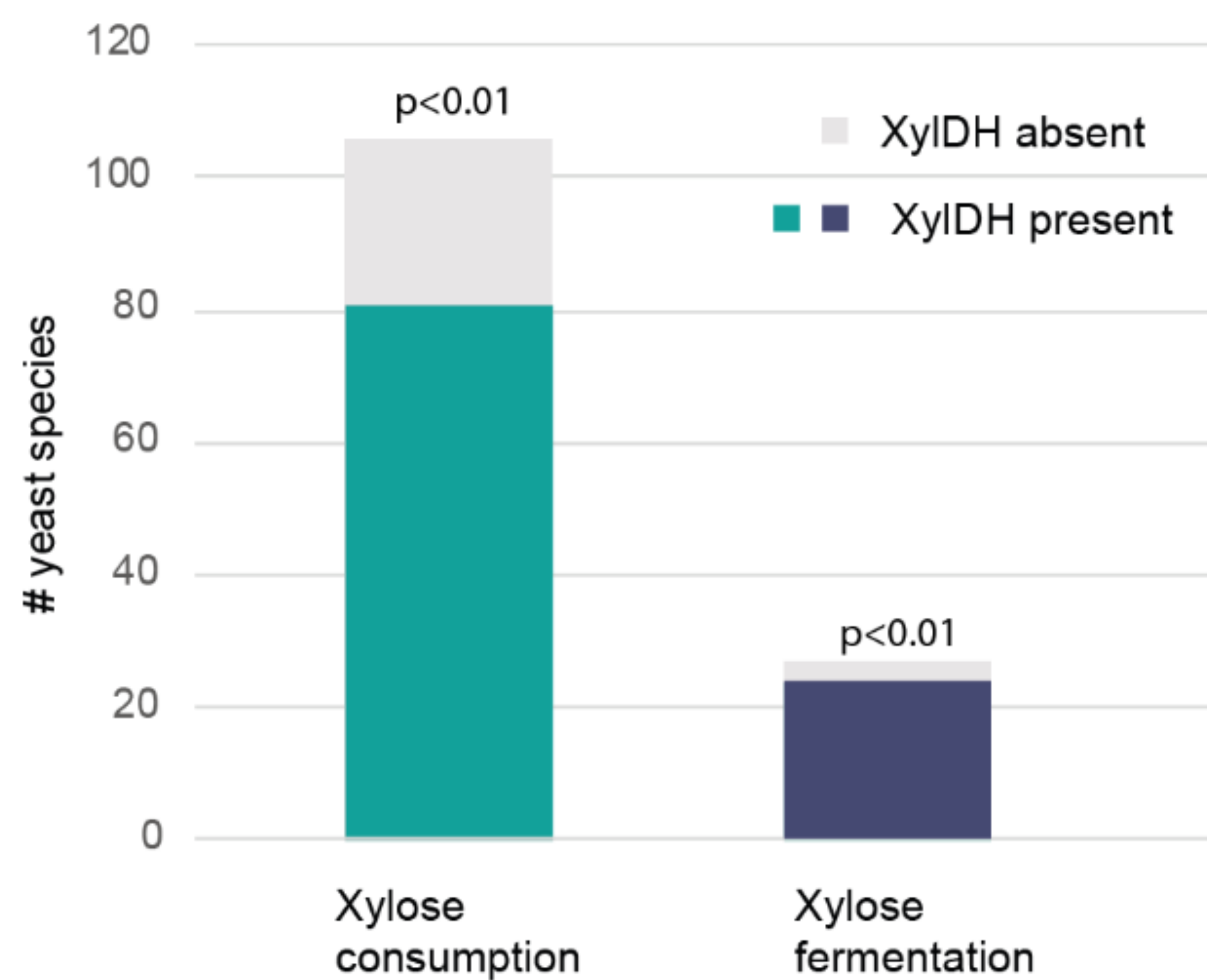
Alinhamento conservado para XylIDH distribuída em sua árvore de genes. Ao longo de um alinhamento 648aa de XylIDH, encontramos 28 sítios conservados para mais de 90% das proteínas, incluindo 3 sítios 100% conservados, indicados pelo número destacado com a cor do aminoácido.

O terceiro modelo de seleção foi testado chamado FUBAR que usa uma aproximação Bayseana para inferir taxas de substituições sinônimas e não-sinônimas a cada sitio para uma dada filogenia e alinhamento. Os resultados revelam evidências de seleção purificadora em 65,4% da sequencia protéica, indicando uma pequena taxa evolutiva para gene.

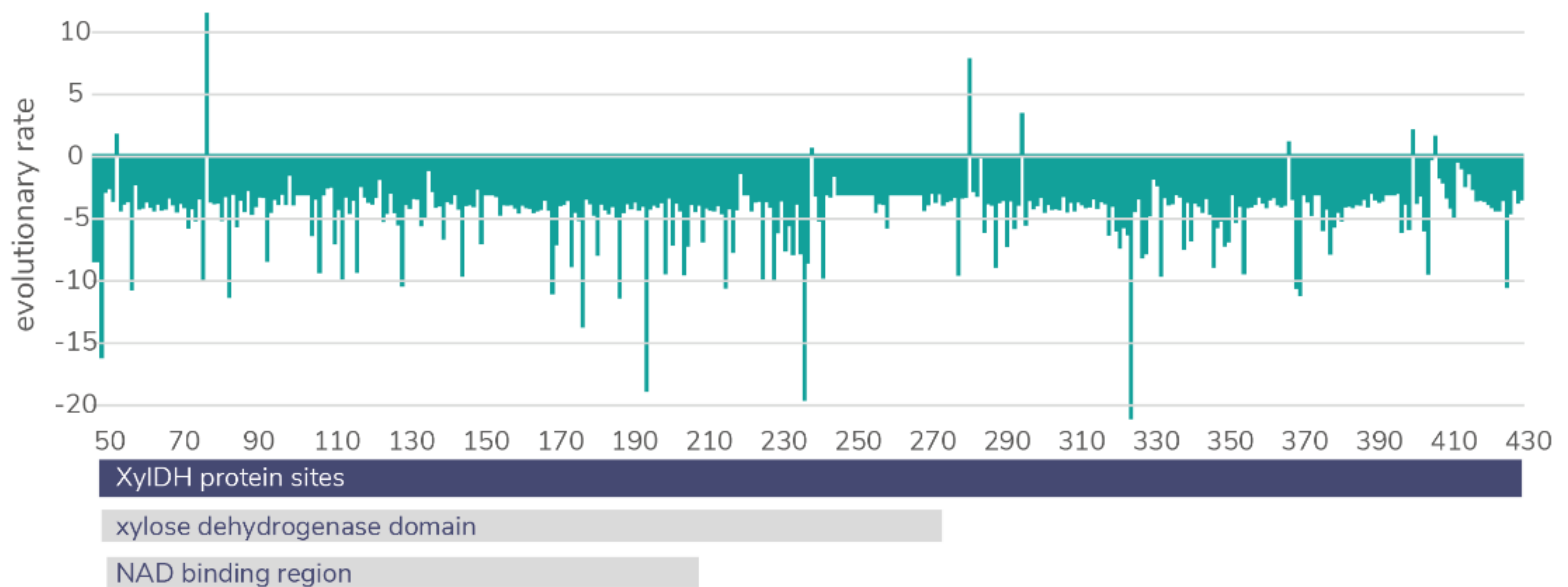


## Relação com o consumo xilose

Análises estatísticas correlacionando 106 espécies consumidoras, 24 fermentadoras de xilose e a presença de XylDh mostraram um enriquecimento do gene nesses organismos.



A anotação das sequencias no InterPro revelou, além do domínio da proteína que um sitio de ligação de NAD+ altamente conservados como a figura a seguir mostra.



## Conclusão

Embora a relação causal dos genes XylDH com o consumo de xilose em leveduras deva ser mais investigada experimentalmente, nossos resultados já apontam para: i) uma associação não aleatória dos genes XylDH com o consumo de xilose conhecido e fenótipos de fermentação; ii) às evidências de seleção positiva na evolução de XylDH em clados fermentadores de xilose; iii) para domínios conservados selecionados negativamente sugerindo manutenção da função; iv) a uma ausência de uma via metabólica completa para XylDH em leveduras.

O projeto realizado resultou em um manuscrito que será enviado para publicação.