

ANÁLISE DAS ESPÉCIES NA PLATAFORMA PHYTOZOME, NA IDENTIFICAÇÃO DO GENE DA ÁCIDO D- GALACTURÔNICO REDUTASE PARTICIPANTE DA VIA AUXILIAR DA BIOSÍNTESE DA VITAMINA C

Francisco Robson Figueiredo da Costa (1); João Gabhriel Beserra Borges (2); Luís Flávio Saraiva Mendes (3)

(1) Universidade Estadual do Ceará – UECE, rob.figueiredo@aluno.uece.br; (2) Universidade Estadual do Ceará - UECE, gabhriel.borges@aluno.uece.br; (3) Universidade Estadual do Ceará – UECE, flavio.saraiva@uece.br.

Introdução

O ácido L-ascórbico (AsA) ou vitamina C é um dos mais abundantes metabólitos, possuindo um importante papel na fisiologia das plantas em relação aos diferentes tipos de estresses, bem como, também está envolvido no crescimento e desenvolvimento desses organismos. Ele é um poderoso antioxidante, responsável principalmente pela diminuição dos níveis de radicais livres produzidos, tanto em situações normais como em momentos de injúrias.

Sua ação antioxidante pode ser caracterizada como um mecanismo direto ou indireto. Essa vitamina também possui um forte envolvimento no estabelecimento de respostas a diferentes estresses ambientais como seca alta salinidade, ozônio, radiação ultravioleta, altas temperaturas e elevadas intensidades luminosas. Como antioxidante, o ácido ascórbico possui um importante papel contra estresses oxidativos. As espécies reativas do oxigênio (ROS), como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), íon superóxido e radical hidroxil causam estresse oxidativo e são gerados por uma larga variedade de fatores. Inicialmente o peróxido de hidrogênio gerado pela explosão oxidativa desempenha um papel importante na iniciação da resposta de hipersensibilidade (CHEN, SILVA e KLESSIG 1993; LEVINE et al., 1994), entretanto, dada a elevada toxicidade das espécies reativas do oxigênio como o radical hidroxila esses níveis devem ser controlados. Esse controle é realizado através de uma rede conectada de antioxidantes. Dentro dessa rede, o ácido ascórbico elimina as ROS através de múltiplos mecanismos. O próprio AsA tem a capacidade de eliminar diretamente diferentes ROS como o oxigênio singleto e os radicais superóxido e hidroxila (PADH, 1990).

Como algumas espécies de animais perderam a capacidade de síntese do ácido L-ascórbico, eles necessitam consumir em sua dieta fontes de vitamina C, tornando-se dependentes de organismos primários produtores como as plantas. A parede celular das células vegetais também pode ser um ponto de partida para a síntese do ácido ascórbico.

Pelo menos quatro rotas são cogitadas até o presente momento, sendo que duas são bem definidas, acabando por formar compostos que precedem a síntese do ascorbato. Nesse ponto se destacam inicialmente aquelas que envolvem a participação da L-galactose e GDP-L-gulose, do D-galacturonato, e do mio-inositol, considerados como intermediários propostos na biossíntese do ácido ascórbico, indicando que parte da via animal também pode estar operando em plantas. Cada uma dessas moléculas representa uma das rotas propostas para a biossíntese. Nos humanos, aparentemente o gene da enzima L- gulono-1,4-lactona oxidase seria o responsável pela biossíntese, estando presente em outros mamíferos, mas diferentemente dos humanos o gene está ativo nesses animais.

Mais recentemente, foi demonstrado que a expressão ectópica do gene da L- gulono-1,4-lactona oxidase de ratos recuperou o teor de ácido ascórbico em folhas em cinco *Arabidopsis* mutantes (VTC) que eram deficientes em teores de ácido ascórbico (RADZIO, 2003). Isto significou que ou a enzima L- gulono-1,4-lactona oxidase presente em ratos usa L-galactono-1,4-lactona como substrato, ou que o substrato real, L-gulono-1,4-lactona, está sendo produzido em *Arabidopsis* (VALPUESTA e BOTELLA, 2004).

Alguns dos diferentes polímeros que a compõem são fontes de compostos que recentemente foram encontrados participando do processo biossintético. Particularmente um desses compostos, o ácido D-galacturônico, pode ser utilizado para desencadear uma via que culmina com a produção do ascorbato. Esse conjunto de reações parece estar envolvido em tecidos em que a parede celular está em um processo degradativo ou de elevado grau de desenvolvimento.

Diante disso, o objetivo do trabalho foi identificar a presença do gene da Ácido D-galacturonato redutase, participante da via biossintética da vitamina C nas espécies vegetais constantes na Plataforma Phytozome. Verificar comparativamente a identidade daqueles que demonstraram ter o gene, bem como montar uma árvore filogenética.

Metodologia

A sequência primária da Ácido D- galacturônico redutase de *Bathycoccus prasinus* foi obtida do National Center for Biotechnology Information (NCBI) e submetida na plataforma Phytozome. Logo após a submissão na caixa de sequências em todas as espécies da plataforma Phytozome, foi escolhida a sequência alvo e o tipo de busca TBLASTN a página levou as informações a uma página secundária com a descrição dos frames demonstrativos dos genes.

Após cada abordagem foram definidas quais espécies possuíam as sequências gênicas da enzima Ácido D- galacturônico redutase. Como objetivo esse trabalho visou definir quais as espécies com o genoma sequenciado que possuíam não apenas a via clássica Wheeler/Smirnoff, mas também a que envolve a atuação da Ácido D- galacturônico redutase.

Resultados e discussão

Das 64 espécies de plantas encontradas no Phytozome dos diversos filos, apenas um filo possui o gene referente a enzima Ácido D- galacturonato redutase que auxilia na síntese do L-ascórbico que sintetiza a vitamina C, ajudando em diversas reações bioquímicas.

Das 7 espécies do filo Chlorophyta encontradas no Phytozome, apenas a *Chlamydomonas reinhardtii* possui o gene referente a enzima. Levando a hipótese que esta planta tenha uma relação próxima com o *Bathycoccus prasinus*, seja por relações evolutivas, simbióticas ou associação.

Conclusões

Sendo o *Bathycoccus prasinus* e a *Chlamydomonas reinhardtii* tão diferentes morfológicamente ainda conseguimos encontrar em seu material genético semelhanças que mostram uma relação ancestral e de sínteses similares para a produção do L-ascórbico que resultará na biossíntese da vitamina C.

A presença de um gene referente a enzima Ácido D- galacturonato redutase não implica na conclusão que a via do Ácido D- galacturonato esteja presente e ativa, ou seja, que haja expressão gênica e proteica. Entretanto, por ser uma enzima crucial nessa via existe uma possibilidade que se tenha realmente a presença dessa via ativa nas espécies que demonstraram a presença dos genes. Tal evidência fortalece a ideia de uma complementaridade de vias, já que a degradação das paredes celulares no amadurecimento de frutos pode elevar os teores de vitamina C.

Palavras-Chave: Bioinformática; Vitamina C; Ascorbato.

Referências

CHEN Z, SILVA H.; KLESSIG, D.F. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. **Science** 262, 1883–1886, 1993.

LEVINE, A.; TENHAKEN, R.; DIXON, R.; LAMB, C. H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. **Cell** 79, 583–593, 1994.

PADH, H. Cellular functions of ascorbic acid. **Biochemistry and Cell Biology** 68, 1166–1173, 1990.

RADZIO, J. A.; LORENCE A.; CHEVONE B.I.; NESSLER C.L. L-Gulono-1,4-lactone oxidase expression rescues vitamin C-deficient Arabidopsis vtc mutants. **Plant Molecular Biology** 53, 837–844, 2003.

VALPUESTA, V.; BOTELLA, M.A. Biosynthesis of L-ascorbic acid in plants: New pathways for an old antioxidant. **Trends in Plant Science**. p.573-574, 2004.

