

I CONGRESSO INTERNACIONAL DE BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR X CURSO DE INVERNO

A BIOSÍNTESE DE ACETIL-COA EM *Herbaspirillum seropedicae* É REGULADA PELA PROTEÍNA PII

Larissa Fonseca Tomazini^{1*}, Eduardo Sabatine Lopes¹, Marco Aurelio Schuler de Oliveira¹
Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Bioquímica¹,
larissa_tomazini@hotmail.com*



Introdução

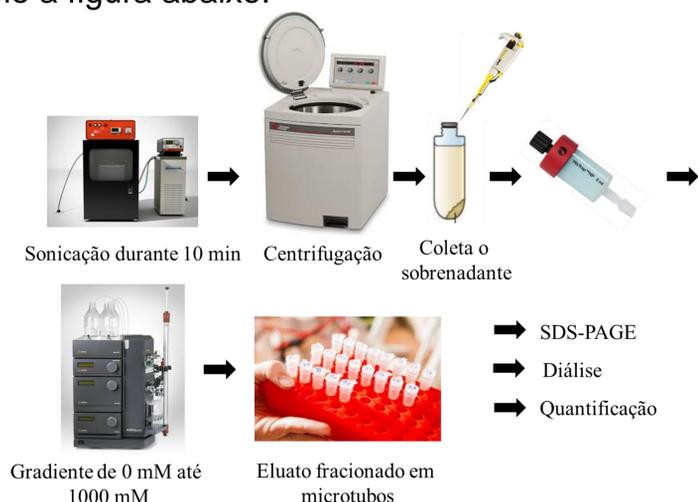
A família de proteínas PII regula a atividade de muitas enzimas-alvo por interação direta proteína-proteína. Essas proteínas têm sido descritas há muito tempo como um importante regulador do metabolismo do nitrogênio. No entanto, evidências atuais têm mostrado que as proteínas PII podem também regular o metabolismo do carbono, sugerindo uma regulação mais ampla da família de proteínas PII. Recentemente, nosso grupo identificou, através de um interatoma de alto rendimento, a interação entre a proteína PII GlnB com a proteína fosfotransacetilase, Pta, da bactéria fixadora de nitrogênio *Herbaspirillum seropedicae*. A proteína PTA catalisa a interconversão reversível de acetil-CoA e acetil fosfato. O balanceamento das reações diretas e inversas é essencial para a adaptação das bactérias aos diferentes ambientes

Objetivos

Nosso objetivo é mostrar a regulação *in vitro* da proteína Pta de *Herbaspirillum seropedicae* por GlnB.

Metodologia

Para verificar se a atividade da proteína Pta é regulada pela proteína PII de *H. seropedicae*, ambas as proteínas foram superexpressas em larga escala e em seguida purificadas conforme a figura abaixo:



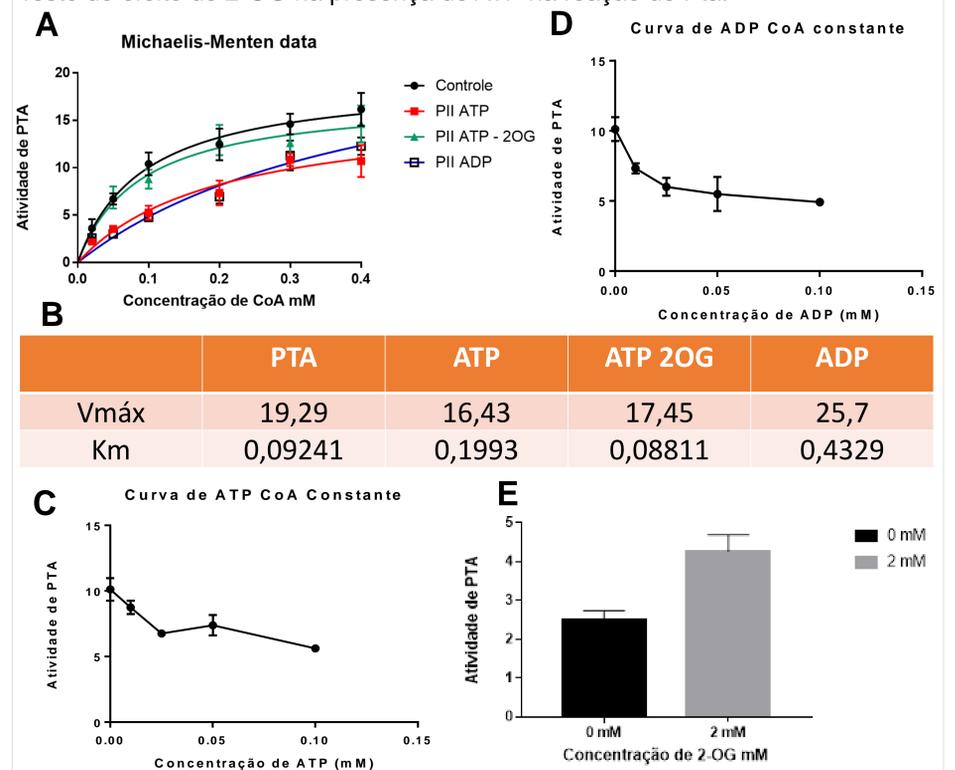
Com as proteínas purificadas a regulação foi então verificada através da atividade da Pta na presença e ausência de ATP, ADP e 2-OG. A formação de Acetil-CoA foi analisada em 233 nm.

100 mM Tris-HCl pH 7,2
2 mM Acetil-Fosfato
0,15 mM Coenzima A
0,6 µg de Pta



Resultados

Figura 3. **A.** Curva de concentração de CoA na presença e ausência de PII e seus efetores. **B.** Tabela Vmáx e Km calculados a partir da curva de concentração na figura A. **C.** Curva de concentração de ATP. **D.** Curva de concentração de ADP. **E.** Teste do efeito de 2-OG na presença de ATP na reação de Pta.



Conclusões

Nossos resultados sugerem que GlnB inibe a síntese de acetil-CoA aumentando o Km da enzima na presença de ATP e ADP. A interação entre GlnB e Pta foi interrompida pelo 2-OG na presença de ATP, liberando o efeito inibitório. A forma uridililada de GlnB, por outro lado, não foi capaz de inibir a atividade de síntese de Pta acetil-CoA. Em conjunto, os resultados aqui relatados indicam que a proteína GlnB não modificada controla a biossíntese de Acetil-CoA em *Herbaspirillum seropedicae*.

Agradecimentos



Referências

RODRIGUES, T. E.; GERHARDT, E. C. M.; OLIVEIRA, M. A.; CHUBATSU, L. S.; PEDROSA, F. O.; SOUZA, E. M.; SOUZA, G. A.; MÜLLER-SANTOS, M.; HUERGO, L. F. Search for novel targets of the PII signal transduction protein in Bacteria identifies the BCCP component of acetyl-CoA carboxylase as a PII binding partner, *Molecular Microbiology*, v. 91, p. 754-761, 2014.

BONATTO, A.C.; COUTO, G.H.; SOUZA, E.M.; ARAÚJO, L.M.; PEDROSA, F.O.; NOINDORF, L.; BENELLI, E.M. Purification and characterization of the bifunctional uridylyltransferase and the signal transducing proteins GlnB and GlnK from *Herbaspirillum seropedicae*. *Prot. Express. Pur.*, v. 55, p. 293-299, 2007.

