

VÍRUS GIGANTES DE ALGAS: CHLOROVÍRUS COMO UMA NOVA E DIVERSA FONTE DE QUITINASES COMO POTENTES MOLÉCULAS BIOTECNOLÓGICAS PARA O CONTROLE DE ALGAS

OLIVEIRA E.G.¹., SERAFIM M.S.M.¹, SOUZA S.A.C.¹, FILHO, C.A.C.¹, FAJTOVA P.³, O'DONOGHUE A.J.O.³
BLEICHER, L.², NAGEM R.A.P.², RODRIGUES R.A.L.¹

¹Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, UFMG.

²Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento Bioquímica e Imunologia, Instituto de Ciências Biológicas, UFMG.

³Skaggs School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, University of California San Diego, La Jolla, CA, 92037, USA.

E-mail de contato: elleng.quimica@gmail.com

Os chlorovírus são grandes vírus de DNA nucleocitoplasmáticos (NCLDV) que infectam algas da família Chlorellaceae. Esses vírus possuem genomas complexos que codificam uma diversidade de enzimas envolvidas no metabolismo de carboidratos, como as glicosil hidrolases da família GH18. Neste estudo, investigamos a abundância e a diversidade de quitinases em genomas de chlorovírus como potenciais moléculas para controle biológico. Para as análises estruturais, as sequências de aminoácidos obtidas de 128 genomas virais foram analisadas com ProSiteExpasy e HHPred, e as estruturas 3D foram modeladas com AlphaFold2. Os potenciais sítios de interação foram previstos com FTSite e PrankWeb. Os genes dos vírus PBCV-1 e FR483 foram clonados em plasmídeos pSUMO e expressos em bactérias BL21, seguidos de purificação em coluna de níquel. Análises de tolerância à temperatura, pH e curva cinética de Michaelis-Menten (afinidade) foram realizadas utilizando o substrato 4-metilumbeliferil N-acetil-β-D-glucosaminídeo. Os dados de predição mostraram baixa identidade de aminoácidos dessas enzimas comparadas com genes conservados, como a topoisomerase II. A presença de aminoácidos polares conferiu maior variabilidade entre Alphachlorovirus. Três domínios GH18 foram clonados e demonstraram atividade enzimática. O primeiro domínio do GH18 do PBCV-1 atua como endoquitinase, com atividade ótima em pH 7, enquanto o segundo domínio das enzimas do PBCV-1 e do FR483 apresenta atividade exoquitinase em pHs mais baixos. Além disso, esses domínios apresentam notável atividade antialgas em *Chlorella variabilis* NC64A, *Chlorella variabilis* Syngen e *Micractinium conductrix*, com valores de IC50 em escala de nanogramas, sendo altamente específicas para estas algas. A quitinase foi cristalizada e sua estrutura obtida com 0.92 angstroms de resolução, como a primeira proteína de alta resolução obtida destes vírus. Nossos resultados mostram que os chlorovírus são uma rica fonte de quitinases ativas, com domínios GH18 distintos apresentando diferentes propriedades enzimáticas, com potencial biotecnológico promissor para o controle de algas.

Palavras chave: Chlorovirus, quitinases, enzimas, GH18, antialga, enzimas, biotecnologia.

Apoio financeiro: CAPES, CNPQ.