

IDENTIFICAÇÃO DE CLUSTERS GÊNICOS BIOSINTÉTICOS RELACIONADOS A PRODUÇÃO DE ANTIBIÓTICOS EM POOL BACTERIANO ISOLADO DE SEDIMENTOS DE RIOS AMAZÔNICOS

SOUZA^{1,2}, Rafael Pinto; SOUSA^{1,2}, Thiago Fernandes; QUEIROZ², Claudia Afras; LOPES^{1,4}, Eraldo Ferreira; YAMAGISHI³, Michel E. Beleza; DA SILVA², Gilvan Ferreira

¹Universidade Federal do Amazonas - UFAM, ²Embrapa Amazônia Ocidental, ³Embrapa Informática Agropecuária,

⁴Instituto de Saúde e Biotecnologia (ISB) UFAM-Coari

E-mail: rsouzabiotec@gmail.com

Introdução: O gênero *Streptomyces* (Classe: Actinobacteria) são bactérias gram-positivas, filamentosas, produtoras de esporos que apresentam crescimento ótimo em temperaturas entre 25 a 30 °C e pH de 6 até 9 (1). Espécies desse gênero apresentam ação biológica variada e são reconhecidas principalmente por seus produtos naturais altamente bioativos, sendo vários desses já comercializados, a *Streptomyces* spp. também são usadas para biocontrole de fitopatógenos de importância agrícola, tornando esses microrganismos de grande interesse biotecnológico voltado ao desenvolvimento de bioinsumos (2). Com os avanços tecnológicos nas áreas de sequenciamento de genomas, identificação de compostos e ferramentas de bioinformática como o antiSMASH é possível identificar agrupamentos gênicos com potencial de produção de novas moléculas bioativas, esses, muitas vezes podem estar silenciados em condições de cultivo laboratoriais (3). Nesse sentido, técnicas de biologia molecular como CRISPR-Cas9, pool bacteriano ou *pool-seq* que é uma metodologia de sequenciamento de um grande número de indivíduos, onde o DNA desses vários isolados é agrupado para um único sequenciamento, sendo assim uma técnica e também uma alternativa muito eficaz de redução de custo e tempo. e abordagem dependente de cultivo como OSMAC (*One Strain Many Activity Compounds*) têm aumentado a produção de compostos com pouco rendimento por meio do desbloqueio clusters gênicos biossintéticos (BGCs) (4, 5, 6). Nesse sentido, o presente estudo visa avaliar o potencial biotecnológico de um pool bacteriano obtido de sedimentos do Rio Solimões por meio da mineração genômica voltada à identificação de BGCs. **Material e Métodos:** Um *pool* genômico de isolados de bactérias de sedimentos de rios amazônicos foi obtido por meio de sequenciamento na plataforma Illumina com pair-end de 150 pb e cobertura de 100X. O genoma montado foi analisado usando a plataforma antiSMASH para a identificação de clusters gênicos biossintéticos, determinação da classe das moléculas e mineração direta partindo dos genes para predição de metabólitos secundários. A predição de função de cada gene foi determinada por meio de análise de domínios no pfam e BLAST no NCBI. O acesso ao patrimônio genético foi autorizado pelo SISGEN N° AB6B14F. **Resultados e Discussão:** A montagem do *pool* genômico resultou em 42 Mb onde foram identificados 118 clusters biossintéticos de 12 classes distintas, sendo as mais predominantes as sintases de peptídeos não-ribossômicos (NRPS) com 32 BCGs, terpenos 18, policetídeo sintase (PKS) 17, sideróforos 8. Dentre estes 118 clusters 14 apresentam 100% de similaridade com BGCs disponíveis em bancos de dados, como os relacionados à biossíntese de albaflavenona (composto com função antimicrobiana) e rizomida do tipo A, B e C (composto antitumoral, antifúngico contra o mofo de pepino e antibiótico contra *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*). 2 BGCs possuem mais de 80% de similaridade com clusters biossintéticos com funções já determinadas e 99 clusters biossintéticos que não apresentaram similaridade com BGCs depositados em bancos de dados, o que pode indicar que esses BGCs são relacionados a vias de biossíntese de novas moléculas ou que pertencem a vias biossintéticas ainda não caracterizadas, porém com produtos já conhecidos. Os resultados reforçam o potencial de recursos genéticos amazônicos para prospecção de produtos naturais bioativos.

Apoio: FAPEAM, CNPq, CAPES e EMBRAPA.

Referências:

1. Li, Q.; Chen, X.; Jiang, Y.; Jiang, C. Actinobacteria Basics and Biotechnological Application: morphological identification of actinobacteria. Intech Open Science, Open Minds. Chapter 3. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/61461>;
2. Araújo, J. M. de; Calazans, G. M. T.; Melo, I. S. de. Importância de actinobactérias para a agricultura. Repositório Alice. Capítulo em livro científico (CNPMA). EMBRAPA. 2008. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/16267>>. Acesso em: 18 de fevereiro de 2022;
3. Lee N.; Hwang, S.; Kim, J.; Cho, S.; Palsson, B.; Cho, B. K. Mini review: Genome mining approaches for the identification of secondary metabolite biosynthetic gene clusters in Streptomyces. Computational and Structural Biotechnology Journal. Vol. 18, p. 1548-1556. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.06.024>;
4. Lino, C. A.; Harper, J. C.; Carney, J. P.; Timlin, J. A. Delivering CRISPR: a review of the challenges and approaches, drug delivery. 25:1, 1234-1257. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/10717544.2018.1474964>;
5. Anand, S.; Mangano, E.; Barizzone, N.; Bordini, R.; Sorosina, M.; Clarelli, F.; Corrado, L.; Boneschi, F. M.; D'Alfonso, S.; Bellis, G. Next Generation Sequencing of Pooled Samples: guideline for variants' filtering. Scientific Reports volume 6, Article number: 33735. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep33735>;
6. Pan, R.; Bai, X.; Chen, J.; Zhang, C. H.; Wang, H. Exploring Structural Diversity of Microbe Secondary Metabolites Using OSMAC Strategy: a literature review. Front. Microbiol. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00294>;
7. Zhao, B.; Lin, X.; Lei, L.; Lamb, D.; Kelly, S. L.; Wateman, M. R.; Cane, D. E. Biosynthesis of the Sesquiterpene Antibiotic Albaflavenone in Streptomyces coelicolor A3(2). J. Biol. Chem., [S. l.], v. 283, n. 13, p. 8183-8189, 28 mar. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M710421200>;
8. Wang, X.; Zhou, H.; Chen, H.; Jing, X.; Zheng, W.; Li, R.; Sun, T.; Liu, J.; Fu, J.; Huo, L. Discovery of recombinases enables genome mining of cryptic biosynthetic gene clusters in Burkholderiales species. PNAS. 115 (18) E4255-E4263. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1720941115>;
9. Panthee, S.; Hamamoto, H.; Suzuki, Y. In silico identification of lysocin biosynthetic gene cluster from Lysobacter sp. RH2180-5. J Antibiot 70, 204-207. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/ja.2016.102>.

