



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

ANE CATARINE TOSI COSTA

**ANÁLISE GENÔMICA E TRANSCRIPTÔMICA DE
SACCHAROMYCES CEREVISIAE EM RESPOSTA A ESTRESSES
CONSECUTIVOS**

VITÓRIA
2021

ANE CATARINE TOSI COSTA

**ANÁLISE GENÔMICA E TRANSCRIPTÔMICA DE
SACCHAROMYCES CEREVISIAE EM RESPOSTA A ESTRESSES
CONSECUTIVOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Patricia Machado Bueno Fernandes

VITÓRIA, ES

2021

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

T713a Tosi Costa, Ane Catarine, 1990-
Análise genômica e transcriptômica de *Saccharomyces cerevisiae* em resposta a estresses consecutivos / Ane Catarine Tosi Costa. - 2021.
121 f. : il.

Orientadora: Patricia Machado Bueno Fernandes.
Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Microbiologia Industrial. 2. Bioinformática. 3. Levedura. 4. Genoma. 5. Transcriptoma. 6. Biotecnologia. I. Machado Bueno Fernandes, Patricia. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. III. Título.

CDU: 61

ANE CATARINE TOSI COSTA

**ANÁLISE GENÔMICA E TRANSCRIPTÔMICA DE
SACCHAROMYCES CEREVISIAE EM RESPOSTA A ESTRESSES
CONSECUTIVOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Apresentada no dia 12 de agosto de 2021

Prof^a. Dr^a. Patricia Machado Bueno Fernandes (Orientadora)
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Alexandre Martins Costa Santos (Examinador Interno)
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Antonio Alberto Ribeiro Fernandes (Examinador Interno)
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Rogelio Lopes Brandao (Examinador Externo)
Universidade Federal de Ouro Preto

Prof. Dr. Fernando Araripe Gonçalves Torres (Examinador Externo)
Universidade Federal de Brasília

Prof. Dr. José Aires Ventura (Suplente)
Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência e Extensão Rural

Prof^a. Dr^a. Monica Montero Lomeli (Suplente)
Universidade Federal do Rio de Janeiro

VITÓRIA, ES

2021

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais, Clenilton e Raeth, meus irmãos, Gustavo e Raissa e ao meu esposo, Marcelo.

AGRADECIMENTOS

Às agências de fomento, FINEP, CNPq, CAPES, FAPES e à UFES pelo apoio financeiro e infraestrutura que viabilizou o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço à minha orientadora Prof^a Dr^a Patricia Machado Bueno Fernandes por todo o apoio, paciência e confiança durante toda a minha trajetória, desde o mestrado até aqui.

Aos professores A.Alberto R. Fernandes, Alexandre Martins e José Aires Ventura pelas valiosas discussões dos resultados durante nossas reuniões semanais que tanto amadurecem meu olhar para a pesquisa científica.

Aos professores Dr. Rogélio Brandão e Dr. Fernando Araripe por aceitarem o convite de participar da banca avaliadora e por dedicarem seu tempo às correções deste trabalho.

Ao Professor Dr. James R Broach da Penn State University por ter me dado oportunidade de passar seis meses em seu laboratório durante o doutorado sanduiche. Esse tempo que passei em seu laboratório impactou minha experiência de vida pessoal e acadêmica imensamente.

Ao meu esposo Marcelo Batelochi pela paciência, apoio constante e pelas longas horas auxiliando e discutindo esse trabalho.

Aos meus pais e confidentes, Raeth e Clenilton, e irmãos, Raissa e Gustavo, por terem me escutado e acalentado em todos os momentos que precisei do seu apoio.

Aos meus tios (Tia Penha, Tia Simone, Tio Zezo), especialmente a Tia Rita (*in memoriam*) por terem sido meu porto seguro durante minha estadia em Vitória.

Ao meu amigo Carlos Rafael por todo apoio científico e emocional.

E aos colegas do Laboratório de Biotecnologia Aplicada ao Agronegócio, que tanto contribuíram para a idealização e concretização desse trabalho. Aos que já passaram pelo LBAA e aos que ainda estão por lá, principalmente Raissa, Luiza Adami, Marlonni e Tathiana.

RESUMO

COSTA, A.C.T. **Análise genômica e transcriptômica de *Saccharomyces cerevisiae* em resposta a estresses consecutivos**. 2021. 123f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, UFES, Espírito Santo. Brasil.

Durante a fermentação, as leveduras enfrentam estresses simultâneos e consecutivos, e sua sobrevivência e a eficiência do processo fermentativo dependem de sua adaptação a essas condições instáveis. Mesmo com o advento das análises ômicas que possibilitaram o estudo do genoma completo de levedura e de seu transcriptoma, a resposta aos estresses consecutivos ainda não é muito clara. Para explorar isso, uma cepa de linhagem industrial (BT0510) floculante, resistente à diversos estresses e com alta produtividade teve seu genoma sequenciado e analisado, seguido de uma análise do transcriptoma após estresses consecutivos. Os resultados foram contrastados com o de outras leveduras. A análise do genoma da BT0510 identificou várias alterações em genes envolvidos no metabolismo de nitrogênio e integridade de organelas, assim como a fragmentação de vários genes de floculação. A cepa também apresentou deleção de alguns genes que codificam asparaginases, genes da família DUP240 e do loci de utilização de maltose. A resposta transcricional comum da BT0510 frente a diferentes estresses consecutivos indicou alterações no metabolismo de carbono, atividade do peroxissomo e resposta a estresse oxidativo. Diversos genes foram apontados como genes chave na resposta como *SYM1*, *STF2* e várias HSPs, além dos fatores de transcrição *ADR1* e *USV1*. A comparação do transcriptoma da BT0510 com o de uma cepa laboratorial em resposta aos mesmos estresses reforçou o papel de *ADR1* assim como de *SYM1* e de várias pequenas HSPs. A análise comparativa do transcriptoma também indicou *STF2* como possível indutor de tolerância na cepa industrial. Em conjunto, estes resultados indicam genes alvos para construção de cepas mais resistentes que podem otimizar diversos processos fermentativos.

Palavras-chave: RNA-Seq. Levedura. Tolerância a estresse. Processo fermentativo. Genoma. Transcriptoma

GENOMIC AND TRANSCRIPTOMIC ANALYSIS OF *Saccharomyces cerevisiae* UNDER CONSECUTIVE STRESSES

ABSTRACT

COSTA, A.C.T. **Genomic and transcriptomic analysis of of *Saccharomyces cerevisiae* under consecutive stresses**. 2021. 123f. Thesis (Doctoral in Biotechnology) - Postgraduation Biotechnological Programme, UFES, Espírito Santo. Brazil.

During fermentation, yeasts face simultaneous and consecutive stresses, and their efficiency and performance depend on their adaptation to these unstable conditions. Even with the advent of omics analyzes, which allowed the complete yeast genome and its transcriptome to be studied, the response to consecutive stresses is still not well understood. To explore this, the genome and transcriptome of an industrial, stress-resistant strain (BT0510) was analyzed after consecutive stress and compared with other yeasts. Analysis of the genome of BT0510 identified several changes in genes involved in nitrogen metabolism and organelle integrity, as well as fragmentation of several flocculation genes. The strain also showed deletion of several genes encoding asparaginases, DUP240 family genes and maltose utilization loci. The common transcriptional response of BT0510 to different consecutive stresses indicated alterations in carbon metabolism, peroxisome activity, and oxidative stress response. Several genes were identified as key genes in the response, such as *SYM1*, *STF2*, and several HSPs along with the transcription factors *ADR1* and *USV1*. Comparison of the transcriptome of BT0510 with a laboratory strain in response to the same stresses reinforced the role of *ADR1* as well as *SYM1* and several small HSPs. Comparative analysis of the transcriptome also suggested *STF2* as a possible tolerance inducer in the industrial strain. Taken together, these results indicate target genes for the construction of more resistant strains that can optimize various fermentation processes.

Keywords: RNA-Seq. Yeast. Stress tolerance. Fermentative process. Genome. Transcriptome



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
SISTEMA INTEGRADO DE BIBLIOTECAS**

UFES

Termo de Autorização para Publicação de Teses e Dissertações Eletrônicas.

Na qualidade de titular dos direitos de autor da publicação, autorizo a Universidade Federal do Espírito Santo a publicar em ambiente digital institucional, sem ressarcimento dos direitos autorais previstos na Lei nº 9.610/98 e em outras que regulem ou vierem a regular a matéria, o texto integral da obra abaixo citada, conforme permissões assinaladas, para fins de leitura e/ou impressão, a título de divulgação da produção científica brasileira.

Tipo de documento: () Dissertação (x) Tese
Nome autor: Ane Catarine Tosi Costa
Vínculo empregatício:
Identificador único de autor (https://orcid.org/signin - cadastramento gratuito): ORCID https://orcid.org/0000-0002-2521-9653
Telefone para contato:
E-mail: anectosi@gmail.com Pode ser disponibilizado? (x) sim () não
Título: ANÁLISE GENÔMICA E TRANSCRIPTÔMICA DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE EM RESPOSTA A ESTRESSES CONSECUTIVOS
Nome do programa de pós-graduação: Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia
Nome Orientador: Dra. Patricia Machado Bueno Fernandes ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2695-3638
Nome Co-orientador: ORCID:
Nome Co-orientador: ORCID:
Membro da banca: Dr. Alexandre Martins Costa Santos
Membro da banca: Dr. Rogelio Lopes Brandao
Membro da banca: Dr. Fernando Araripe Gonçalves Torres
Membro da banca: Dr. José Aires Ventura
Membro da banca: Dr. Antonio Alberto Ribeiro Fernandes
Data de Defesa: <u>12</u> / <u>08</u> / <u>2021</u>
Área do conhecimento (conforme tabela do CNPq - http://www.cnpq.br/documents/10157/186158/TabeladeAreasdoConhecimento.pdf) 2.12.02.02-8 Microbiologia Industrial e de Fermentação
Palavras-chave (máximo 5): Levedura, Tolerância a estresse, Processo fermentativo, Genoma, Transcriptoma



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
SISTEMA INTEGRADO DE BIBLIOTECAS

UFES

Termo de Autorização para Publicação de Teses e Dissertações Eletrônicas.

Agência de Financiamento:

(x) CAPES (x) CNPq (x) FAPES (x) Outra: FINEP

Tipo de acesso:

() Livre¹ () Restrito² (x) Embargo³ – 1 ____ anos.

Orientações:

1 Não existe restrições quanto ao acesso.

2 O acesso está condicionado à identificação (login) no repositório.

3 Documentos com acesso embargado por tempo determinado. Informe o período de embargo na lacuna.

Tipo de Licença Creative Commons (CC). Este tipo de licença permite que o próprio autor sem intervenção de intermediários (ex.: advogados) informe às pessoas como elas devem utilizar a sua obra sem pedir autorização prévia.

Se você adotar a Licença Creative Commons marque uma das opções abaixo:

X	ESQUEMA	CONTEÚDO
		Atribuição – CC BY. Sem reservas em relação ao uso, inclusive para comercialização.
		Atribuição-Compartilha Igual – BY-SA. Permite a remixagem, adaptação e criação a partir do seu trabalho. Para fins comerciais e não comerciais deve ser atribuído crédito e licença sob termos idênticos do original.
X		Atribuição- SemDerivações – CC BY-ND. Permite a redistribuição comercial e não comercial desde que não seja alterado no seu todo e o crédito seja atribuído ao autor.
		Atribuição-NãoComercial – CC BY NC. Permite remixagem, adaptação e criação para fins não comerciais, com atribuição de crédito aos novos trabalhos que não precisam ser licenciados nos mesmos termos.
		Atribuições-SemDerivações-SemDerivados – CC BY-NC-ND. Mais restritiva da licenças, só permite o download dos trabalhos e o compartilhamento com atribuição de crédito do autor.

Local: Vitória, Espírito Santo

Data: 13 / 09 / 2021

Assinatura do autor:

Yane Catarina Zosi Costa