

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

CARACTERIZAÇÃO DA ATIVIDADE SINALIZADORA DA GLUTATIONA
PEROXIDASE-*LIKE* 8 (GPXL8) DE *ARABIDOPSIS THALIANA*

THOMAZ STUMPF TRENZ

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

CARACTERIZAÇÃO DA ATIVIDADE SINALIZADORA DA GLUTATIONA
PEROXIDASE-*LIKE* 8 (GPXL8) DE *ARABIDOPSIS THALIANA*

THOMAZ STUMPF TRENZ

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular do Centro de Biotecnologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Biologia Celular e Molecular.

Orientadora: Prof. Dra. Márcia Maria Auxiliadora Naschenveng Pinheiro Margis

Co-orientadora: Dra. Fernanda Lazzarotto

Porto Alegre, março de 2023.

CIP - Catalogação na Publicação

Trenz, Thomaz Stumpf
Caracterização da Atividade Sinalizadora da
Glutathiona Peroxidase-Like 8 (GPXL8) de *Arabidopsis*
thaliana / Thomaz Stumpf Trenz. -- 2023.
104 f.
Orientadora: Márcia Maria Auxiliadora Naschenveng
Pinheiro Margis.

Coorientadora: Fernanda Lazzarotto.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Centro de Biotecnologia do Estado do
Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em
Biologia Celular e Molecular, Porto Alegre, BR-RS,
2023.

1. Glutathiona Peroxidase. 2. Estresse Abiótico. 3.
ROS. 4. *Arabidopsis thaliana*. I. Pinheiro Margis,
Márcia Maria Auxiliadora Naschenveng, orient. II.
Lazzarotto, Fernanda, coorient. III. Título.

Instituição e Fontes Financiadoras

O trabalho desenvolvido nesta tese foi realizado no Núcleo de Genômica Funcional de Plantas, do Laboratório de Genética Molecular Vegetal do Departamento de Genética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e em colaboração com o Prof. Dr. Andreas Meyer do Laboratório de Sinalização Química (*Chemical Signaling Lab*), no *Institute of Crop Science and Resource Conservation* (INRES), na Universidade de Bonn (Bonn, Alemanha).

O projeto foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) do Ministério da Educação (MEC), que forneceu a bolsa integral de doutorado, além da bolsa para o doutorado sanduíche. Este projeto também contou com recursos do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e da Fundação Alexander von Humboldt (Alemanha).

Agradecimentos

Agradeço a minha orientadora, Prof. Dra. Márcia Pinheiro Margis, pela oportunidade de me permitir fazer parte de seu grupo de pesquisa, e também pela confiança e liberdade me dada quanto às escolhas feitas durante o doutorado. Agradeço as diversas reuniões confortantes e cheias de palavras otimistas, assim como os ensinamentos dentro e fora da pesquisa.

Agradeço a minha co-orientadora, Dra. Fernanda Lazzarotto, pelo suporte, ajuda e paciência. Por sempre estar disponível a tentar resolver qualquer dúvida, mesmo sendo algo simples. Sou muito grato também aos diversos conselhos que transcendem a pesquisa.

Agradeço a Letícia Gal, técnica do nosso laboratório, que sempre me ajudou quando necessitei. Uma pessoa que facilitou minha vida muitas vezes e sempre com bom humor.

Agradeço ao Dr. Yugo Lima Melo pelas dicas e sugestões pertinentes, além da amizade construída.

Agradeço a aluna de iniciação científica, Camila Luiza Delaix, pela constante ajuda nos experimentos, assim como pela oportunidade de orientá-la, exemplificando que a aprendizagem é uma via com dois sentidos.

Agradeço ao Prof. Dr. Andreas Meyer, por ter me permitido fazer parte de seu grupo durante o doutorado sanduíche. Agradeço também as discussões e aprendizados que obtive durante minha permanência na Alemanha.

Agradeço a Dra. Sophie Hendrix pelos ensinamentos, paciência e ajuda durante todo meu doutorado sanduíche. Ela facilitou muito minha adaptação no laboratório, e é um exemplo para mim.

Agradeço a todos os meus colegas de laboratório, pelas conversas, discussões, momentos, paciência e amizade. Um especial agradecimento a Dra. Fernanda Valandro, que abdicou do seu retorno antecipado ao Brasil para dar continuidade ao experimento de TurboID com as minhas amostras, no seu doutorado sanduíche nos Estados Unidos da América.

Agradeço a toda a minha família, em especial a minha mãe Carla, ao meu padrasto Gilberto e ao meu pai Jorge por todo suporte e apoio que têm me dado durante a minha jornada nesta vida.

Agradeço a minha namorada, Bianca, pelos momentos e parceria nestes últimos anos. Por não ter desistido do nosso amor durante meu período sanduíche, e pela capacidade de alegrar a minha vida um pouco mais todos os dias.

Agradeço aos mestres que conheci durante a minha caminhada científica. Sou muito grato aos ensinamentos e aprendizados que colecionei durante todos esses anos.

Agradeço a CAPES, CNPq e FAPERGS que fomentaram minha formação e me possibilitaram a oportunidade de conhecer pessoas e locais incríveis.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para este trabalho e para minha formação.

A todos os meus sinceros agradecimentos!

Índice

Abreviaturas	8
Resumo	10
Abstract	12
1. Introdução	13
1.1 Proteção e sinalização das ROS.....	14
1.2 Glutathiona peroxidases.....	16
2. Objetivos	20
2.1 Objetivo geral	20
2.2 Objetivos específicos	20
3. Resultados	21
Capítulo I.....	22
Capítulo II	35
Capítulo III	60
4. Considerações finais	93
5. Referências	97
<i>CURRICULUM VITAE</i> resumido	102

Abreviaturas

BASTA: Glufosinato de amônio (do inglês, *glufosinate ammonium*)

cDNA: DNA complementar

CDS: Sequência codificante (do inglês, *Coding sequence*)

cGPX: Glutaciona Peroxidase clássica (do inglês, *classical GPX*)

cGPxIn: Glutaciona Peroxidase clássica de invertebrados (do inglês, *classical GPX from invertebrates*)

Cys_p: Cisteína peroxidática

Cys_r: Cisteína resolutive

DNA: Ácido Desoxirribonucleico (do inglês, *Deoxyribonucleic Acid*)

ER: Retículo Endoplasmático (do inglês, *Endoplasmic reticulum*)

GFP: Proteína Fluorescente Verde (do inglês, *Green Fluorescent Protein*)

GPx/GPX: Glutaciona Peroxidase

GPXL: Glutaciona Peroxidase-*like*

GSH: Glutaciona reduzida

GSSG: Glutaciona oxidada

MS: Meio de cultivo *Murashige and Skoog*

NADPH: Fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida

NTRa: Tiorredoxina redutase dependente de NADPH A (do inglês, *NADPH-dependent Thioredoxin A*)

PCR: Reação em Cadeia da Polimerase (do inglês, *Polimerase Chain Reaction*)

PHGPx: GPX hidróperóxido fosfolípido (do inglês, *phospholipid hydroperoxide GPX*)

PPI: Interação proteína- proteína (do inglês, *Protein-Protein Interaction*)

RNA: Ácido Ribonucleico (do inglês, *Ribonucleic Acid*)

roGFP2: GFP2 redox sensível (do inglês, *redox-sensitive GFP2*)

ROS: Espécies Reativas de Oxigênio (do inglês, *Reactive Oxygen Species*)

SeCys: Selenocisteína

TAIR: *The Arabidopsis Information Resource*

TbID: Biotina ligase modificada, BirA'/TurboID

TRX/TRXh3: Tiorredoxina

WT: Tipo selvagem (do inglês, *Wild Type*)

YFP: Proteína Fluorescente Amarela (do inglês, *Yellow Fluorescent Protein*)

Resumo

As glutathione peroxidases (GPXs) são enzimas antioxidantes que catalisam a redução de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) ou peróxidos orgânicos em água ou álcoois, usando glutathione (GSH) ou tioredoxinas (TRXs) como agentes redutores. A grande diversidade entre as GPXs de animais e não animais, em relação à sua estrutura, função, presença do resíduo de selenocisteína (SeCys) e preferência por agentes redutores levanta a questão se elas compartilham um ancestral comum. Como as GPXs de plantas e leveduras usam TRXs como redutores, elas foram denominadas GPX-like (GPXL). Além de interagir com seu substrato usual, sabe-se que GPXL também podem interagir com outras proteínas. É o caso da GPXL3 de levedura (conhecida também como Orp1), a qual oxida o fator de transcrição Yap1 quando na presença de H_2O_2 . Este processo leva à expressão de genes que codificam proteínas envolvidas na defesa antioxidante, indicando que as GPXLs podem ter outras funções além da redução de peróxidos. A GPXL8 de *Arabidopsis thaliana* está localizada no citosol e no núcleo. Embora seu papel na detoxificação de espécies reativas de oxigênio (ROS) tenha sido descrito anteriormente, pouco se sabe sobre seu envolvimento na detecção e sinalização de ROS. Portanto, nossos principais objetivos neste trabalho foram identificar proteínas que interagem com GPXL8, determinar como e se GPXL8 oxida tais proteínas e desvendar a relação filogenética entre GPXs de animais e não animais. Análises filogenéticas e de sequência indicam que GPXs de animais e não animais compartilham ancestralidade genética, e que a incorporação de SeCys aconteceu no início da evolução do reino animal. Para avaliar a capacidade da GPXL8 de transferir elétrons provenientes do H_2O_2 e, assim, oxidar proteínas-alvo, usamos uma proteína fluorescente verde sensível à oxirredução (roGFP2) como uma proteína-alvo artificial para GPXL8. Ensaios *in vitro* mostram que GPXL8 pode oxidar roGFP2, apontando que ela possui atividade de tiol oxidase. Além disso, todas as três cisteínas de GPXL8 regulam e limitam a oxidação de roGFP2. Potenciais proteínas interatoras de GPXL8 foram identificadas pelo método TurboID. Além disso, plantas transgênicas foram geradas

para posteriores análises funcionais e fisiológicas. Nossos resultados sugerem que a GPXL8 pode ser uma proteína sensora de alterações redox, e ajudam no entendimento de como as plantas transmitem informações a partir do H_2O_2 para as proteínas-alvo em resposta a vários estímulos ambientais.

Abstract

Glutathione peroxidases (GPXs) are antioxidant enzymes that catalyze the reduction of hydrogen peroxide (H_2O_2) or organic peroxides to water or alcohols, using either glutathione (GSH) or thioredoxins (TRXs) as reducing agents. The large diversity among animal and non-animal GPXs, regarding their structure, function, presence of a selenocysteine (SeCys) residue, and reducing agent preference raises the question of whether they share a common ancestor. Because plant and yeast GPXs use TRXs as reductants, they were termed GPX-like (GPXL). Besides interacting with its usual substrate, GPXL can interact with other proteins. This is the case of yeast GPXL3 (also known as Orp1) that oxidizes the transcription factor Yap1 in the presence of H_2O_2 . This process leads to the expression of genes encoding proteins involved in antioxidative defense. This suggests that GPXLs may have other functions besides peroxide reduction. *Arabidopsis thaliana* GPXL8 is localized in the cytosol and nucleus. Although its role in reactive oxygen species (ROS) detoxification has been described previously, little is known about its involvement in ROS sensing and signaling. Therefore, our main goals in this study were to identify proteins interacting with GPXL8, determine whether and how GPXL8 oxidizes such proteins, and unveil the phylogenetic relationship between animal and non-animal GPXs. Phylogenetic and sequence analyses indicate that animal and non-animal GPXs share genetic ancestry, and the incorporation of SeCys happened early in the evolution of the animal kingdom. To evaluate the ability of GPXL8 to sense H_2O_2 and oxidize target proteins, we used a reduction-oxidation-sensitive GFP (roGFP2) as an artificial GPXL8 target protein. *In vitro* assays display that GPXL8 can oxidize roGFP2, showing that it possesses a thiol oxidase activity. Moreover, all three GPXL8 cysteines regulate and limit the oxidation of roGFP2. GPXL8 putative interacting proteins were identified by the TurboID method. Besides, transgenic plants were generated for further functional and physiological analyses. Our results suggest that GPXL8 can be a redox sensor and help in understanding how plants relay information from H_2O_2 to target proteins in response to various environmental stimuli.

1. Introdução

A geração de oxigênio molecular (O_2) pelos primeiros organismos fotossintetizantes mudou drasticamente o mundo (Fischer and Valentine, 2019; Blankenship, 2010). A alta eletronegatividade desta molécula possibilitou um significativo aumento na eficiência nas principais vias metabólicas nas células eucarióticas, sendo utilizado comoceptor final de elétrons e possibilitando o surgimento da vida multicelular (Thannickal, 2009). Além disso, o O_2 é o substrato primário para a formação da camada de ozônio, que protege a maioria dos organismos vivos da radiação ultravioleta, e ele também contribuiu para o surgimento da vida em habitats terrestres a partir de ambientes marinhos. Apesar de suas características benéficas, o aumento da concentração de O_2 atmosférico causou forte pressão seletiva, direcionando a evolução na Terra (Reinhard et al., 2016).

Os antigos oceanos do nosso planeta eram diferentes do que são hoje, principalmente no que diz respeito à composição de seus elementos químicos (Anbar, 2008). A concentração crescente de oxigênio molecular na água do mar afetou profundamente os níveis de muitos metais de transição. O Ferro solúvel (Fe^{2+}), por exemplo, foi oxidado pelo O_2 , gerando óxidos de ferro insolúveis, que eventualmente formaram crostas de ferro, diminuindo a concentração de sua forma solúvel (Anbar, 2008). Essas reações, no entanto, também formaram espécies reativas de oxigênio (ROS), que podem ser extremamente tóxicas para as células, danificando estruturas orgânicas. A formação descontrolada das ROS, portanto, provavelmente eliminou muitos organismos antigos que ainda não eram capazes de eliminá-las ou desintoxicá-las (Mittler, 2017). Essa pressão seletiva causada pelas ROS foi, em última análise, contornada por meio da produção e adaptação de moléculas enzimáticas e não enzimáticas, que são capazes de eliminar/reduzir esses compostos tóxicos. Embora as ROS possam ser nocivas, elas também são usadas para o benefício das células, ditando o destino delas em muitas ocasiões (Schieber

and Chandel, 2014). Além disso, elas são necessárias para a ativação de várias proteínas e vias, sendo essenciais para diversos processos (Schmidt and Schippers, 2015; Xia et al., 2015). A percepção, sinalização, proteção e modificações em resposta aos diferentes níveis das ROS foram fundamentais para a progressão da vida de ambientes anaeróbios para aeróbios; no entanto, pouco se sabe como esses mecanismos se interconectaram ao longo da evolução.

1.1 Proteção e sinalização das ROS

As espécies reativas de oxigênio são produzidas em diversos compartimentos celulares, como nos peroxissomos, no espaço apoplástico pelas NADPH oxidases (RBOH), em cloroplastos e em mitocôndrias, durante a fotossíntese e a respiração celular como subprodutos, entre outros (Mignolet-Spruyt et al., 2016; Apel and Hirt, 2004). As ROS mais comuns em plantas são peróxido de hidrogênio (H_2O_2), oxigênio singlete (1O_2), superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e o radical hidroxila (OH^{\cdot}), sendo o último o mais reativo de todas. A produção das ROS é significativamente aumentada por estresses/mudanças ambientais, tais como seca, alta temperatura, alta luminosidade, presença de altas concentrações de metais pesados, entre outros (Atkinson and Urwin, 2012; Waqas et al., 2019). Quando as concentrações das ROS são muito altas, podem causar desequilíbrio redox, resultando em estresse oxidativo e morte celular (Mittler, 2017). O estresse oxidativo pode ser definido como o desbalanço entre oxidantes e antioxidantes, favorecendo os oxidantes, que leva a uma ruptura no controle/sinalização redox e/ou ao dano molecular (Jones, 2006).

A maioria dos organismos aeróbicos pode contrabalançar o aumento das ROS produzindo moléculas de baixo peso molecular e enzimas que convertem esses compostos nocivos em produtos não tóxicos (Hasanuzzaman et al., 2020). Os antioxidantes não-enzimáticos, como o ascorbato e a glutathiona, podem reagir diretamente com o superóxido e o radical hidroxila, formando radicais muito menos reativos (Sharma et al., 2012). Outras moléculas antioxidantes não-enzimáticas importantes encontradas em plantas são os flavonoides, a prolina, as vitaminas e os carotenoides. As enzimas antioxidantes, da mesma forma, são capazes de

converter/reduzir as ROS em espécies menos reativas. Alguns exemplos de enzimas antioxidantes são a catalase, a superóxido dismutase (SOD), a ascorbato peroxidase (APX), a peroxirredoxina (PRX) e a glutathiona peroxidase (GPX) (Hasanuzzaman et al., 2020; Apel and Hirt, 2004). Embora a maioria dos estudos tenha mostrado essas enzimas como proteínas exclusivamente relacionadas com a proteção oxidativa da célula, estudos recentes propõem funções de sinalização para algumas delas, principalmente aquelas que contêm cisteína em seu sítio ativo (Passaia and Margis-Pinheiro, 2015; Bela et al., 2015; Neumann et al., 2009).

A sinalização e a percepção das ROS parecem estar presentes desde procaríotos, como demonstrado pela regulação do fator de transcrição regulador de estresse oxidativo (OxyR) em *Escherichia coli* (Zheng et al., 1998). Níveis crescentes de H₂O₂ oxidam a cisteína peroxidática (Cys199) de OxyR, produzindo um intermediário contendo ácido sulfênico. A formação de uma ligação dissulfeto intramolecular entre a cisteína peroxidática e outro resíduo de cisteína de OxyR (a cisteína resolutive, Cys208) altera a função da proteína e permite que ela atue como um fator de transcrição (FT) para regular positivamente a transcrição de genes antioxidantes. A consequente diminuição dos níveis de ROS pela atividade das enzimas antioxidantes favorece a redução do OxyR, reequilibrando, assim, a homeostase redox das células de *E. coli* (Zheng et al., 1998; Kim et al., 2002). O mecanismo que envolve a oxidação das cisteínas para a modulação das respostas frente o aumento dos níveis de H₂O₂ foi também recentemente demonstrado no estudo do receptor de membrana quinase HPCA1 (do inglês, *H₂O₂-induced Ca²⁺ Increases*) de *Arabidopsis thaliana*, cuja oxidação leva ao influxo de cálcio (Wu et al., 2020).

A hipótese de que as enzimas antioxidantes estão relacionadas à proteção e à sinalização ganhou forte suporte quando foi demonstrado que o fator de transcrição de levedura AP-1-like, Yap1 (do inglês, *Yeast AP-1-like*, homólogo funcional de OxyR), realiza ligações dissulfeto semelhantes a OxyR, mas não desencadeadas diretamente por H₂O₂. As cisteínas de Yap1 são oxidadas *in vivo* pela glutathiona peroxidase 3 (GPX3, também conhecida como Orp1), levando a uma mudança

conformacional que conduz a proteína ao núcleo da célula, permitindo, assim, que este fator de transcrição regule a expressão de genes do metabolismo antioxidante (Delaunay et al., 2000; Delaunay et al., 2002). Posteriormente, foi elucidado que a oxidação de Yap1 por GPX3 requer outra proteína, a proteína ligadora de Yap1 (Ybp1, do inglês, *Yap1-binding protein*), que atua como uma proteína *scaffold*, montando o complexo e favorecendo a oxidação específica da Cys (Bersweiler et al., 2017). Os estudos mostram que GPX3 de levedura atua principalmente reduzindo H_2O_2 a água e usando tioredoxina como agente redutor. Entretanto, a habilidade da GPX3 em oxidar outras proteínas de forma a modificar sua estrutura e função evidenciou o papel desta enzima como proteína sensora do metabolismo redox (Bersweiler et al., 2017). Este mecanismo foi descrito similarmente para Cap1 (ortólogo funcional de Yap1 em *Candida albicans*), fator de transcrição modificado por GPX3 para então ativar a transcrição de genes antioxidantes. A Ybp1 de *C. albicans* não apenas facilita a oxidação de Cap1 mediada por GPX3, mas também previne que o FT seja degradado no citoplasma (Patterson et al., 2013).

1.2 Glutathione peroxidases

As glutathione peroxidases (EC1.11.1.9) são enzimas capazes de catalisar a redução de peróxidos em água ou em seus respectivos álcoois. Essas peroxidases foram as primeiras selenoproteínas descritas em mamíferos, e receberam esse nome pois utilizam glutathione como agente redutor (Figura 1) (MILLS, 1957; Deponte, 2013). Além disso, metade das GPXs descritas em metazoários são proteínas multiméricas, geralmente estruturadas em complexos tetraméricos. Por outro lado, as GPXs vegetais e fúngicas tendem a preferir tioredoxina à glutathione como agente redutor, e a maioria delas apresenta estruturas monoméricas (Deponte, 2013; Iqbal et al., 2006; Gaber et al., 2012; Lee et al., 2008b). Com exceção de algumas GPXs codificadas por algas verdes, as GPXs de organismos não pertencentes ao reino Metazoa não contêm selenocisteína (Koh et al., 2007; Herbette et al., 2007). A presença do grupamento tiol, em seus resíduos de cisteína, as torna menos reativas do que a contraparte de selenotiol (Hondal et al., 2013; Maiorino et al., 1995),

inferindo um mecanismo enzimático diferente na redução do peróxido, devido à adição de uma cisteína resolutive no centro redox (Figura 1, B)(Avery et al., 2004; Toppo et al., 2009). Em contrapartida, há uma cisteína conservada na porção central das GPXs codificadas por todos os domínios da vida, mas que ainda não se sabe detalhadamente a sua função (Koh et al., 2007; Navrot et al., 2006).

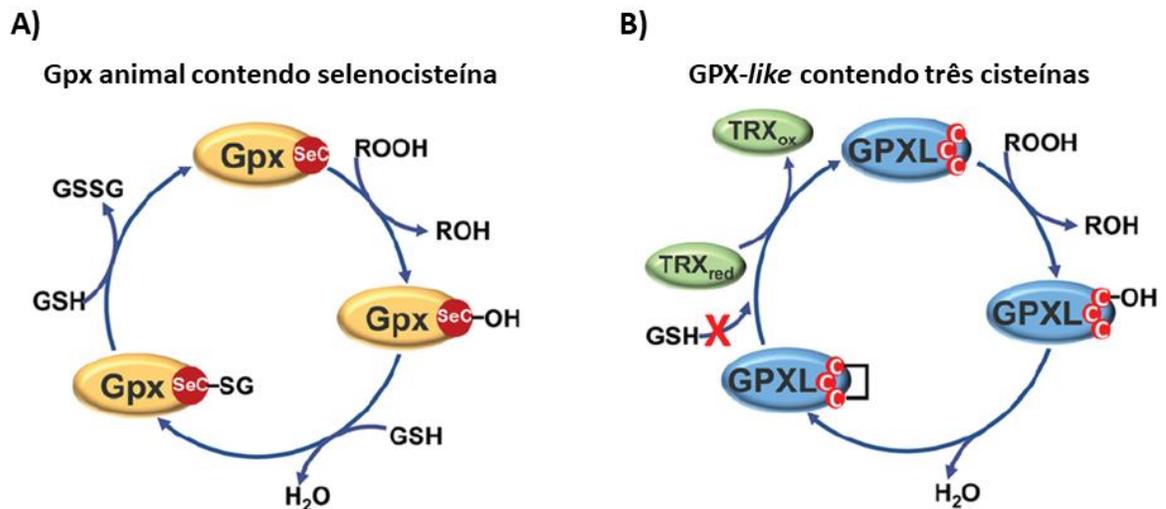


Figura 1: Diferenças no mecanismo enzimático entre glutatona peroxidases. A) Glutaciona peroxidases (Gpxs) de animais, as quais contêm selenocisteína (SeC) em seu sítio ativo. B) Glutaciona peroxidase-like (GPXL) de plantas, que possuem três cisteínas (C). GSH: glutatona reduzida. GSSG: glutatona oxidada. TRX_{ox} e TRX_{red}: tioredoxina oxidada e reduzida, respectivamente. ROOH: peróxido. ROH: álcool. OH: grupamento oxidrila. Imagem adaptada de (Meyer et al., 2021).

Existem também divergências na nomenclatura das glutatona peroxidases, sendo usualmente utilizada letras maiúsculas para GPX de mamíferos e *A. thaliana*, e “GPx” ou “Gpx” para outros animais, plantas e organismos. Atualmente, por possuírem diferenças nos mecanismos catalíticos, agentes redutores, estruturas e até mesmo substratos, foi adotado uma nomenclatura alternativa para as GPXs vegetais e fúngicas, nomeadas como GPX-like, ou simplesmente GPXL (EC 1.11.1.24, Figura 1, B)(Attacha et al., 2017; Adriani et al., 2021). Essas divergências, somadas às contínuas e recentes evidências que GPXLs podem atuar como

proteínas sinalizadoras, sugerem que as GPXLs possuem papéis adicionais aos de enzimas antioxidantes, e também questionam se elas compartilham um ancestral comum com as GPXs animais (Bela et al., 2015; Passaia and Margis-Pinheiro, 2015; Zhou et al., 2022; Riyazuddin et al., 2022; Margis et al., 2008).

Arabidopsis thaliana, a planta modelo para estudos genéticos, contém oito glutathione peroxidases-like e a maioria delas já foi estudada quanto a sua atividade peroxidase. Ensaio *in vitro*, com proteínas recombinantes, assim como estudos funcionais, utilizando mutantes *knockout*, indicam que as AtGPXLs dependem de tioredoxina como agente redutor, e não utilizam glutathione (Iqbal et al., 2006; Bela et al., 2018). A exposição de plantas a diferentes hormônios e condições estressantes (ex: alta salinidade) induzem diferentemente a expressão gênica das GPXLs, indicando que esses genes estão envolvidos em respostas de estresse e desenvolvimento, e possivelmente de formas diferentes (Passaia et al., 2014; Bela et al., 2018; Bela et al., 2015); entretanto, sabe-se muito pouco sobre como as GPXLs estão envolvidas na sinalização celular. Miao e colaboradores mostraram que a GPXL3 de *Arabidopsis thaliana* (AtGPXL3) interage com proteínas fosfatases do tipo 2C (PP2C) ABI2 e ABI1, regulando a sua atividade negativamente para promover o fechamento estomático (Miao et al., 2006). Porém, este trabalho foi confrontado com novas evidências que mostram AtGPXL3 como uma proteína localizada no lúmen do retículo endoplasmático e do Golgi (via secretória), e não citoplasmática como mostrada no estudo de Miao et al., questionando a interação com as fosfatases *in vivo* (Attacha et al., 2017). Desta forma, ainda há debate na comunidade científica acerca do papel das AtGPXLs como proteínas sinalizadoras.

A AtGPXL8 (daqui para frente chamada de GPXL8) é uma proteína de localização nuclear e citoplasmática, tornando-a uma possível candidata a sensora das ROS (Gaber et al., 2012). Para além da identificação de potenciais alvos da modulação redox via GPX, a caracterização de enzimas como GPXL8 também tem potencial para a geração de ferramentas biotecnológicas, principalmente visando o aumento da tolerância de plantas a diferentes estresses (Gaber, 2014). Os estudos presentes

nesta tese de doutorado buscaram expandir o conhecimento sobre a evolução das GPXs, e também caracterizar funcionalmente a GPXL8, buscando entender o seu papel como proteína sinalizadora.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

Entender a relação filogenética entre as glutathione peroxidases de diferentes domínios da vida, e caracterizar funcionalmente a GPXL8 de *Arabidopsis thaliana*, buscando compreender sua função sinalizadora redox.

2.2 Objetivos específicos

- a) Desvendar a relação filogenética das GPXs de diferentes reinos da vida a partir de análises de sequências e de árvores filogenéticas;
- b) Caracterizar a atividade de tiol oxidase da GPXL8 de *A. thaliana* utilizando a proteína fluorescente verde sensível a oxirredução (roGFP2) como proteína alvo;
- c) Analisar quais cisteínas estão envolvidas na atividade peroxidase e tiol oxidase de GPXL8, a partir de mutações sítio-dirigidas e ensaios bioquímicos;
- d) Desenvolver ferramentas para estudos funcionais de GPXL8 pela obtenção de plantas transgênicas com diferentes construções. Genótipos para expressão/superexpressão da sequência codificadora de GPXL8 fusionada tradicionalmente com diferentes *tags*, e em *background* diferentes (selvagem e nocaute para GPXL8), além de mutantes na cisteína resolutive de GPXL8, serão gerados a partir da técnica de *floral-dip*;
- e) Identificar possíveis proteínas interatoras de GPXL8, a partir do método de marcação por proximidade TurboID.

3. Resultados

Os resultados desta tese estão apresentados em três capítulos. São eles:

Capítulo I: *Going Forward and Back: The Complex Evolutionary History of the GPx.*

Artigo publicado na revista *Biology*.

Capítulo II: *Arabidopsis glutathione peroxidase-like 8 (GPXL8) acts as an H₂O₂ sensor and oxidizes target proteins.* Manuscrito redigido em formato de artigo científico.

Capítulo III: Geração de plantas transgênicas e identificação de interatores de GPXL8.

5. Referências

- Adriani PP, de Paiva FCR, de Oliveira GS, et al. (2021) Structural and functional characterization of the glutathione peroxidase-like thioredoxin peroxidase from the fungus *Trichoderma reesei*. *Int J Biol Macromol* 167: 93-100.
- Aller I, Rouhier N and Meyer AJ (2013) Development of roGFP2-derived redox probes for measurement of the glutathione redox potential in the cytosol of severely glutathione-deficient *rml1* seedlings. *Front Plant Sci* 4: 506.
- Anbar AD (2008) Oceans. Elements and evolution. *Science* 322(5907): 1481-1483.
- Apel K and Hirt H (2004) Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol* 55: 373-399.
- Arenas FA, Díaz WA, Leal CA, et al. (2010) The *Escherichia coli* *btuE* gene, encodes a glutathione peroxidase that is induced under oxidative stress conditions. *Biochem Biophys Res Commun* 398(4): 690-694.
- Atkinson NJ and Urwin PE (2012) The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *J Exp Bot* 63(10): 3523-3543.
- Attacha S, Solbach D, Bela K, et al. (2017) Glutathione peroxidase-like enzymes cover five distinct cell compartments and membrane surfaces in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ* 40(8): 1281-1295.
- Avery AM and Avery SV (2001) *Saccharomyces cerevisiae* expresses three phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidases. *J Biol Chem* 276(36): 33730-33735.
- Avery AM, Willetts SA and Avery SV (2004) Genetic dissection of the phospholipid hydroperoxidase activity of yeast *gpx3* reveals its functional importance. *J Biol Chem* 279(45): 46652-46658.
- Bela K, Horváth E, Gallé Á, et al. (2015) Plant glutathione peroxidases: emerging role of the antioxidant enzymes in plant development and stress responses. *J Plant Physiol* 176: 192-201.
- Bela K, Riyazuddin R, Horváth E, et al. (2018) Comprehensive analysis of antioxidant mechanisms in *Arabidopsis* glutathione peroxidase-like mutants under salt- and osmotic stress reveals organ-specific significance of the AtGPXL's activities. *Environmental and Experimental Botany* 150: 127-140.
- Bersweiler A, D'Autréaux B, Mazon H, et al. (2017) A scaffold protein that chaperones a cysteine-sulfenic acid in H₂O₂ signaling. *Nat Chem Biol* 13(8): 909-915.
- Blankenship RE (2010) Early evolution of photosynthesis. *Plant Physiol* 154(2): 434-438.
- Cho KF, Branon TC, Udeshi ND, et al. (2020) Proximity labeling in mammalian cells with TurboID and split-TurboID. *Nat Protoc* 15(12): 3971-3999.
- D'Autréaux B and Toledano MB (2007) ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8(10): 813-824.
- Delaunay A, Isnard AD and Toledano MB (2000) H₂O₂ sensing through oxidation of the Yap1 transcription factor. *EMBO J* 19(19): 5157-5166.
- Delaunay A, Pflieger D, Barrault MB, et al. (2002) A thiol peroxidase is an H₂O₂ receptor and redox-transducer in gene activation. *Cell* 111(4): 471-481.
- Deponte M (2013) Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes. *Biochim Biophys Acta* 1830(5): 3217-3266.
- Earley KW, Haag JR, Pontes O, et al. (2006) Gateway-compatible vectors for plant functional genomics and proteomics. *Plant J* 45(4): 616-629.
- Ebine K, Miyakawa N, Fujimoto M, et al. (2012) Endosomal trafficking pathway regulated by ARA6, a RAB5 GTPase unique to plants. *Small GTPases* 3(1): 23-27.

- Ferro M, Brugière S, Salvi D, et al. (2010) AT_CHLORO, a comprehensive chloroplast proteome database with subplastidial localization and curated information on envelope proteins. *Mol Cell Proteomics* 9(6): 1063-1084.
- Fischer WW and Valentine JS (2019) How did life come to tolerate and thrive in an oxygenated world? *Free Radic Biol Med* 140: 1-3.
- Gaber A (2014) The importance of Arabidopsis glutathione peroxidase 8 for protecting Arabidopsis plant and E. coli cells against oxidative stress. *GM Crops Food* 5(1): 20-26.
- Gaber A, Ogata T, Maruta T, et al. (2012) The involvement of Arabidopsis glutathione peroxidase 8 in the suppression of oxidative damage in the nucleus and cytosol. *Plant Cell Physiol* 53(9): 1596-1606.
- Gutscher M, Sobotta MC, Wabnitz GH, et al. (2009) Proximity-based protein thiol oxidation by H₂O₂-scavenging peroxidases. *J Biol Chem* 284(46): 31532-31540.
- Hanson GT, Aggeler R, Oglesbee D, et al. (2004) Investigating mitochondrial redox potential with redox-sensitive green fluorescent protein indicators. *J Biol Chem* 279(13): 13044-13053.
- Hasanuzzaman M, Bhuyan MHMB, Zulfiqar F, et al. (2020) Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense in Plants under Abiotic Stress: Revisiting the Crucial Role of a Universal Defense Regulator. *Antioxidants (Basel)* 9(8).
- He M, He CQ and Ding NZ (2018) Abiotic Stresses: General Defenses of Land Plants and Chances for Engineering Multistress Tolerance. *Front Plant Sci* 9: 1771.
- Herbette S, Roeckel-Drevet P and Drevet JR (2007) Seleno-independent glutathione peroxidases. More than simple antioxidant scavengers. *FEBS J* 274(9): 2163-2180.
- Hondal RJ, Marino SM and Gladyshev VN (2013) Selenocysteine in thiol/disulfide-like exchange reactions. *Antioxid Redox Signal* 18(13): 1675-1689.
- Iqbal A, Yabuta Y, Takeda T, et al. (2006) Hydroperoxide reduction by thioredoxin-specific glutathione peroxidase isoenzymes of Arabidopsis thaliana. *FEBS J* 273(24): 5589-5597.
- Jones DP (2006) Redefining oxidative stress. *Antioxid Redox Signal* 8(9-10): 1865-1879.
- Kim SO, Merchant K, Nudelman R, et al. (2002) OxyR: a molecular code for redox-related signaling. *Cell* 109(3): 383-396.
- Kim T-W, Park CH, Hsu C-C, et al. (2019) Application of TurboID-mediated proximity labeling for mapping a GSK3 kinase signaling network in Arabidopsis.
- Kim Y and Jang HH (2019) Role of Cytosolic 2-Cys Prx1 and Prx2 in Redox Signaling. *Antioxidants (Basel)* 8(6).
- Koh CS, Didierjean C, Navrot N, et al. (2007) Crystal structures of a poplar thioredoxin peroxidase that exhibits the structure of glutathione peroxidases: insights into redox-driven conformational changes. *J Mol Biol* 370(3): 512-529.
- Lee LY, Fang MJ, Kuang LY, et al. (2008a) Vectors for multi-color bimolecular fluorescence complementation to investigate protein-protein interactions in living plant cells. *Plant Methods* 4: 24.
- Lee SY, Song JY, Kwon ES, et al. (2008b) Gpx1 is a stationary phase-specific thioredoxin peroxidase in fission yeast. *Biochem Biophys Res Commun* 367(1): 67-71.
- Li S (2014) Redox Modulation Matters: Emerging Functions for Glutaredoxins in Plant Development and Stress Responses. *Plants (Basel)* 3(4): 559-582.
- Ma LH, Takanishi CL and Wood MJ (2007) Molecular mechanism of oxidative stress perception by the Orp1 protein. *J Biol Chem* 282(43): 31429-31436.
- Maiorino M, Aumann KD, Brigelius-Flohé R, et al. (1995) Probing the presumed catalytic triad of selenium-containing peroxidases by mutational analysis of phospholipid

- hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx). *Biol Chem Hoppe Seyler* 376(11): 651-660.
- Margis R, Dunand C, Teixeira FK, et al. (2008) Glutathione peroxidase family - an evolutionary overview. *FEBS J* 275(15): 3959-3970.
- Meyer AJ (2008) The integration of glutathione homeostasis and redox signaling. *J Plant Physiol* 165(13): 1390-1403.
- Meyer AJ, Dreyer A, Ugalde JM, et al. (2021) Shifting paradigms and novel players in Cys-based redox regulation and ROS signaling in plants - and where to go next. *Biol Chem* 402(3): 399-423.
- Miao Y, Lv D, Wang P, et al. (2006) An Arabidopsis glutathione peroxidase functions as both a redox transducer and a scavenger in abscisic acid and drought stress responses. *Plant Cell* 18(10): 2749-2766.
- Mignolet-Spruyt L, Xu E, Idänheimo N, et al. (2016) Spreading the news: subcellular and organellar reactive oxygen species production and signalling. *J Exp Bot* 67(13): 3831-3844.
- Miller G, Suzuki N, Rizhsky L, et al. (2007) Double mutants deficient in cytosolic and thylakoid ascorbate peroxidase reveal a complex mode of interaction between reactive oxygen species, plant development, and response to abiotic stresses. *Plant Physiol* 144(4): 1777-1785.
- MILLS GC (1957) Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *J Biol Chem* 229(1): 189-197.
- Mittler R (2017) ROS Are Good. *Trends Plant Sci* 22(1): 11-19.
- Naranjo B, Migné C, Krieger-Liszkay A, et al. (2016) The chloroplast NADPH thioredoxin reductase C, NTRC, controls non-photochemical quenching of light energy and photosynthetic electron transport in Arabidopsis. *Plant Cell Environ* 39(4): 804-822.
- Navrot N, Collin V, Gualberto J, et al. (2006) Plant glutathione peroxidases are functional peroxiredoxins distributed in several subcellular compartments and regulated during biotic and abiotic stresses. *Plant Physiol* 142(4): 1364-1379.
- Navrot N, Skjoldager N, Bunkenborg J, et al. (2015) A redox-dependent dimerization switch regulates activity and tolerance for reactive oxygen species of barley seed glutathione peroxidase. *Plant Physiol Biochem* 90: 58-63.
- Neumann CA, Cao J and Manevich Y (2009) Peroxiredoxin 1 and its role in cell signaling. *Cell Cycle* 8(24): 4072-4078.
- Nietzel T, Elsässer M, Ruberti C, et al. (2019) The fluorescent protein sensor roGFP2-Orp1 monitors in vivo H₂O₂ and thiol redox integration and elucidates intracellular H₂O₂ dynamics during elicitor-induced oxidative burst in Arabidopsis. *New Phytol* 221(3): 1649-1664.
- Passaia G and Margis-Pinheiro M (2015) Glutathione peroxidases as redox sensor proteins in plant cells. *Plant Sci* 234: 22-26.
- Passaia G, Queval G, Bai J, et al. (2014) The effects of redox controls mediated by glutathione peroxidases on root architecture in Arabidopsis thaliana. *J Exp Bot* 65(5): 1403-1413.
- Patterson MJ, McKenzie CG, Smith DA, et al. (2013) Ybp1 and Gpx3 signaling in *Candida albicans* govern hydrogen peroxide-induced oxidation of the Cap1 transcription factor and macrophage escape. *Antioxid Redox Signal* 19(18): 2244-2260.
- Poole LB, Karplus PA and Claiborne A (2004) Protein sulfenic acids in redox signaling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 44: 325-347.
- Rajagopala SV, Hughes KT and Uetz P (2009) Benchmarking yeast two-hybrid systems using the interactions of bacterial motility proteins. *Proteomics* 9(23): 5296-5302.

- Rao VS, Srinivas K, Sujini GN, et al. (2014) Protein-protein interaction detection: methods and analysis. *Int J Proteomics* 2014: 147648.
- Reinhard CT, Planavsky NJ, Olson SL, et al. (2016) Earth's oxygen cycle and the evolution of animal life. *Proc Natl Acad Sci U S A* 113(32): 8933-8938.
- Riyazuddin R, Bela K, Poór P, et al. (2022) Crosstalk between the Arabidopsis Glutathione Peroxidase-like 5 Isoenzyme (AtGPXL5) and Ethylene. *Int J Mol Sci* 23(10).
- Schieber M and Chandel NS (2014) ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr Biol* 24(10): R453-462.
- Schmidt R and Schippers JH (2015) ROS-mediated redox signaling during cell differentiation in plants. *Biochim Biophys Acta* 1850(8): 1497-1508.
- Schwarzländer M, Dick TP, Meyer AJ, et al. (2016) Dissecting Redox Biology Using Fluorescent Protein Sensors. *Antioxid Redox Signal* 24(13): 680-712.
- Selinski J and Scheibe R (2021) Central Metabolism in Mammals and Plants as a Hub for Controlling Cell Fate. *Antioxid Redox Signal* 34(13): 1025-1047.
- Sharma P, Jha AB, Dubey RS, et al. (2012) Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions *Journal of Botany* 2012(Article ID 217037): 26.
- Shrestha R, Reyes AV, Baker PR, et al. (2022) N Metabolic Labeling Quantification Workflow in Arabidopsis Using Protein Prospector. *Front Plant Sci* 13: 832562.
- Thannickal VJ (2009) Oxygen in the evolution of complex life and the price we pay. *Am J Respir Cell Mol Biol* 40(5): 507-510.
- Tilman D, Balzer C, Hill J, et al. (2011) Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(50): 20260-20264.
- Toppo S, Flohé L, Ursini F, et al. (2009) Catalytic mechanisms and specificities of glutathione peroxidases: variations of a basic scheme. *Biochim Biophys Acta* 1790(11): 1486-1500.
- Trenz TS, Delaix CL, Turchetto-Zolet AC, et al. (2021) Going Forward and Back: The Complex Evolutionary History of the GPx. *Biology (Basel)* 10(11).
- Ugalde JM, Fuchs P, Nietzel T, et al. (2021) Chloroplast-derived photo-oxidative stress causes changes in H₂O₂ and EGSH in other subcellular compartments. *Plant Physiol* 186(1): 125-141.
- Ursini F, Maiorino M and Gregolin C (1985) The selenoenzyme phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Biochim Biophys Acta* 839(1): 62-70.
- Valandro F (2022) *CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E FUNCIONAL DO GENE ATPLAC811.1 NA MORTE CELULAR PROGRAMADA (PROGRAMMED CELL DEATH) EM PLANTAS*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Biblioteca da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Villalobos-López MA, Arroyo-Becerra A, Quintero-Jiménez A, et al. (2022) Biotechnological Advances to Improve Abiotic Stress Tolerance in Crops. *Int J Mol Sci* 23(19).
- Waqas MA, Kaya C, Riaz A, et al. (2019) Potential Mechanisms of Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants Induced by Thiourea. *Front Plant Sci* 10: 1336.
- Wu F, Chi Y, Jiang Z, et al. (2020) Hydrogen peroxide sensor HPCA1 is an LRR receptor kinase in Arabidopsis. *Nature* 578(7796): 577-581.
- Xia XJ, Zhou YH, Shi K, et al. (2015) Interplay between reactive oxygen species and hormones in the control of plant development and stress tolerance. *J Exp Bot* 66(10): 2839-2856.
- Yadav S, Modi P, Dave A, et al. (2020) *Effect of Abiotic Stress on Crops*. IntechOpen.
- Zhang H, Zhu J, Gong Z, et al. (2022a) Abiotic stress responses in plants. *Nat Rev Genet* 23(2): 104-119.

- Zhang K, Li Y, Huang T, et al. (2022b) Potential application of TurboID-based proximity labeling in studying the protein interaction network in plant response to abiotic stress. *Front Plant Sci* 13: 974598.
- Zhang X, Henriques R, Lin SS, et al. (2006) Agrobacterium-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana* using the floral dip method. *Nat Protoc* 1(2): 641-646.
- Zhang Y, Song G, Lal NK, et al. (2019) TurboID-based proximity labeling reveals that UBR7 is a regulator of N NLR immune receptor-mediated immunity. *Nat Commun* 10(1): 3252.
- Zheng M, Aslund F and Storz G (1998) Activation of the OxyR transcription factor by reversible disulfide bond formation. *Science* 279(5357): 1718-1721.
- Zhou H, Zhang F, Zhai F, et al. (2022) Rice GLUTATHIONE PEROXIDASE1-mediated oxidation of bZIP68 positively regulates ABA-independent osmotic stress signaling. *Mol Plant* 15(4): 651-670.
- Zhou Y, Hu L, Ye S, et al. (2018) Genome-wide identification of glutathione peroxidase (GPX) gene family and their response to abiotic stress in cucumber. *3 Biotech* 8(3): 159.

CURRICULUM VITAE resumido

1. DADOS PESSOAIS:

Nome: Thomaz Stumpf Trezn

Local e data de nascimento: Sapiranga, Rio Grande do Sul, Brasil, em 22/08/1992.

Endereço Profissional: Av. Bento Gonçalves, 9500 – Campus do Vale, Bairro Agronomia. CEP: 91501- 970. Porto Alegre, RS, Brasil.

E-mail: thomaztst@gmail.com

2. FORMAÇÃO:

Graduação: Bacharelado em biotecnologia, com ênfase em biotecnologia molecular, pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS, 2011 - 2015). Graduação sanduíche pela *University of Technology Sydney* (UTS, 2014).

Mestrado: Mestrado em biologia celular e molecular, pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular (PPGBCM – UFRGS, 2016 - 2018).

Doutorado: Doutorado em biologia celular e molecular, pelo PPGBCM – UFRGS (2018 - 2023). Doutorado sanduíche pela *University of Bonn* (2021 - 2022).

3. ESTÁGIOS:

Estágio de iniciação científica: Núcleo de Genômica Funcional de Plantas (NGFP – UFRGS, 2012 – 2014, 2015).

Estágio obrigatório de conclusão de curso: *University of the Sunshine Coast* (UniSC, 2014 – 2015).

4. PRÊMIOS E DISTINÇÕES:

Destaque e indicação ao prêmio pela sessão de Genética Vegetal no “XXVII Salão de Iniciação Científica UFRGS” (2015).

5. ARTIGOS COMPLETOS PUBLICADOS:

- a) TRENZ, THOMAZ STUMPF; TURCHETTO-ZOLET, ANDREIA CARINA ; MARGIS, ROGÉRIO ; MARGIS-PINHEIRO, MARCIA ; MARASCHIN, FELIPE DOS SANTOS . *Functional analysis of alternative castor bean DGAT enzymes. GENETICS AND MOLECULAR BIOLOGY (ONLINE VERSION)*, v. 46, p. e20220097, 2023.
- b) TRENZ, THOMAZ STUMPF; DELAIX, CAMILA LUIZA ; TURCHETTO-ZOLET, ANDREIA CARINA ; ZAMOCKY, MARCEL ; LAZZAROTTO, FERNANDA ; MARGIS-PINHEIRO, MÁRCIA . *Going Forward and Back: The Complex Evolutionary History of the GPx. BIOLOGY*, v. 10, p. 1165, 2021.
- c) MARASCHIN, FELIPE DOS SANTOS; KULCHESKI, FRANCELI RODRIGUES ; SEGATTO, ANA LUCIA ANVERSA ; TRENZ, THOMAZ STUMPF ; BARRIENTOS-DIAZ, OSSMAN ; MARGIS-PINHEIRO, MARCIA ; MARGIS, ROGERIO ; TURCHETTO-ZOLET, ANDREIA CARINA . *Enzymes of glycerol-3-phosphate pathway in triacylglycerol synthesis in plants: Function, biotechnological application and evolution. PROGRESS IN LIPID RESEARCH*, v. 73, p. 46-64, 2019.
- d) RICACHENEVSKY, FELIPE K. ; PUNSHON, TRACY; LEE, SICHUL; OLIVEIRA, BEN HUR N.; TRENZ, THOMAZ S.; MARASCHIN, FELIPE DOS SANTOS; HINDT, MARIA N.; DANKU, JOHN; SALT, DAVID E. ; FETT, JANETTE P.; GUERINOT, MARY LOU. *Elemental Profiling of Rice FOX Lines Leads to Characterization of a New Zn Plasma Membrane Transporter, OsZIP7. Frontiers in Plant Science*, v. 9, p. 865, 2018.

6. RESUMO E TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS:

- a) International CEPLAS/IPK Summer School 2022. Arabidopsis glutathione peroxidase-like 8 (GPXL8) acts as a H₂O₂ sensor that can oxidize target proteins. 2022.
- b) XVIII Brazilian Congress of Plant Physiology. Arabidopsis glutathione peroxidase-like 8 (GPXL8) acts as an H₂O₂ sensor and oxidizes target proteins. 2022.
- c) VII Simpósio Brasileiro de Genética Molecular de Plantas. Beyond oil synthesis: characterization of alternative castor bean DGAT enzymes. 2019.
- d) VI Simpósio Brasileiro de Genética Molecular de Plantas. Characterization of new enzymes related to oil biosynthesis in soybean (*Glycine max*). 2017.
- e) I Congresso de Biotecnologia da Região Sul. Expressão e caracterização de novas enzimas de mamona (*Ricinus communis*) relacionadas à produção de óleo. 2016. (Congresso).
- f) IV Simpósio Brasileiro de Genética Molecular de Plantas. Functional characterization of DGAT3 and DAcT enzymes in castor bean (*Ricinus communis*). 2013.
- g) V Congresso Brasileiro de Biotecnologia. Functional characterization of castor bean (*Ricinus communis*) enzymes in *Arabidopsis thaliana*. 2013.