

Utilização de técnicas de triagem de alto desempenho para detecção de Baeyer-Villiger monooxigenases em microrganismos brasileiros.

Georgiana F. da Cruz (PG)¹, Simone M. Mantovani (PG)¹, Suzan P. de Vasconcelos (PG)¹, Renaud Sicard (PG)², Jean L. Reymond (PQ)², Anita J. Marsaioli (PQ)^{1*} anita@iqm.unicamp.br

¹ Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Caixa Postal 6154, CEP: 13083-970, Campinas-SP

² Universidade de Bern Freiestrasse 3, 3012 Bern, Suíça.

Palavras Chave: Triagem de alto desempenho, Baeyer-Villiger monooxigenases.

Introdução

A triagem de alto desempenho (HTS) para biocatálise apresenta-se como uma tecnologia de baixo custo na busca de novos biocatalisadores para uso industrial¹. Esta tecnologia associada à emissão de fluorescência, permite a implementação de ensaios em microescala, baseados em reações simples, rápidas e de fácil detecção. A aplicação desta técnica como ferramenta de rotina possibilita, a princípio, a rápida construção de um banco de dados sobre o potencial enzimático de um conjunto de microrganismos². Desta forma optou-se por esta técnica para avaliar atividades de Baeyer-Villiger monooxigenases frente a 63 microrganismos (fungo, bactéria e levedura) da coleção de culturas do laboratório de biocatálise e síntese orgânica (LABIOSIN-UNICAMP).

Resultados e Discussão

Foram utilizadas 4 sondas fluorogênicas (Figura 1) de acordo com metodologia descrita por Badalassi *et al.*³, para avaliação de células microbianas íntegras⁴.

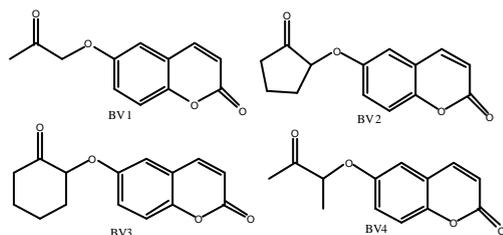


Figura 1. Sondas fluorogênicas avaliadas.

Os ensaios foram realizados em microplacas de 96 poços e monitorados durante 24 h em espectrofotômetro (*Flashscan 530 Analytic Jena*), utilizando filtro de λ_{ex} 460 nm. A concentração da suspensão microbiana utilizada foi de 0,5 mg/mL.

A triagem realizada resultou na detecção de 27 microrganismos com atividade de monooxigenase frente às sondas BV1, BV2 e BV4. Nenhum dos microrganismos testados apresentou atividade para a sonda BV3. A Tabela 1 mostra a intensidade de fluorescência obtida para os microrganismos mais ativos.

29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Tabela 1. Ensaio de HTS para detecção de Baeyer-Villiger monooxigenase em microrganismos brasileiros.

Microrganismos	Intensidade de fluorescência		
	BV1	BV2	BV4
<i>A. alternata</i> CCT 1250	nd	247	nd
<i>A. fumigatus</i> CCT 1277	nd	407	nd
<i>A. niger</i> CCT 1435	83	337	nd
<i>A. niger</i> CCT 4846	nd	214	nd
<i>A. oryzae</i> CCT 0975	nd	71	136
<i>A. terreus</i> CCT 3320	nd	60	91
<i>S. marcescens</i> CCT 2573	118	nd	nd
<i>S. plymuthica</i> CCT 4371	562	nd	87
<i>B. pumilus</i> CBMAI 0008	474	nd	66
<i>B. subtilis</i> CCT 0089	140	nd	61
<i>S. thyphimurium</i> CCT 0528	241	nd	nd
<i>T. cutaneum</i> CCT 1903	127	172	nd

n.d.= Fluorescência não detectada.

Conclusões

Dos 63 microrganismos avaliados, 27 apresentaram atividade biocatalítica de monooxigenase, mesmo que moderada. Todos eles serão avaliados por biocatálise convencional.

Agradecimentos

CAPES, IQ-UNICAMP.

¹ Rilland, C.A.; Bermudez, E.; Shemmer, W.P.C. *Nature*, **1998**, 391, 288.

² Reymond J-L. *Chimia*. **2001**, 55, 1049-1052.

³ Badalassi, F.; Wahler, D.; Klein, G.; Crotti, P.; Reymond, J.L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 4067.

Sociedade Brasileira de Química (SBQ)

⁴ Bicalho, B.; Chen, L-S.; Grognum J.; Reymond, JL.; Marsaioli, A.J. *J. Brazil. Chem. Soc.* **2004**, *15*, 911-916.