

Detecção e aplicação de esterases e lipases em microrganismos isolados da biodiversidade brasileira.

Simone M. Mantovani (PG)¹, Luciana G. de Oliveira (PQ)¹, Anita J. Marsaioli (PQ)^{1*}
anita@iqm.unicamp.br

¹Universidade estadual de Campinas, Instituto de Química, C. P. 6754, CEP: 13083, Campinas - SP

Palavras Chave: Triagem de alto desempenho, esterases, lipases.

Introdução

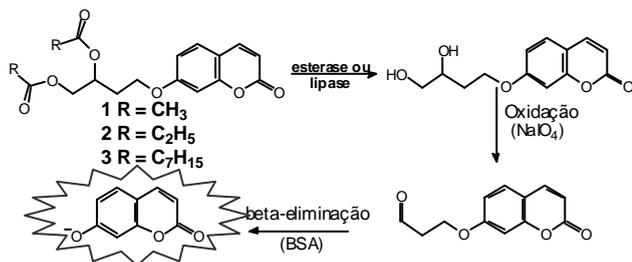
Esterases e lipases representam um grupo diversificado de hidrolases que catalisam a clivagem e a formação de ligações éster, e são bastante aplicadas na síntese assimétrica devido à sua alta regio- e enantiosseletividade¹.

Esse grande número de aplicações aumenta a necessidade da busca por novas enzimas, a qual é geralmente realizada através da triagem enzimática da biodiversidade natural, onde o Brasil se destaca por apresentar uma das maiores do planeta.

Nesse trabalho foram realizados ensaios de triagem de alto desempenho (HTS) para detecção de esterases e lipases em microrganismos isolados de água de várzea de Silves da Amazônia (Ama) e microrganismos isolados do solo de Ilhéus (Ame).

Resultados e Discussão

Primeiramente, foram testados 66 microrganismos por experimentos de HTS em microplacas de 96 poços utilizando os substratos fluorogênicos **1**, **2** e **3**, os quais, foram sintetizados no nosso laboratório (**Esquema 1**). Esses ensaios permitiram selecionar quatro microrganismos com grande potencial enzimático, devido à alta intensidade de fluorescência emitida ao final de 10 h de reação.



Esquema 1. Representação esquemática do ensaio fluorogênico para detecção de enzimas lipases e esterases.

Os microrganismos que mais se destacaram nos ensaios de HTS foram selecionados para estudos por metodologias convencionais utilizando os substratos não fluorogênicos **4**, **5** e **6** (**Figura 1**).

Assim, foi possível confirmar as atividades enzimáticas e as seletividade observadas nos experimentos de HTS, devido às diferenças na

velocidade de hidrólise relacionadas à variação da cadeia alifática dos ésteres testados (**Tabela 1**).

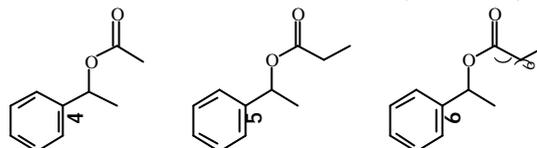


Figura 1. Substratos utilizados nos ensaios de biotransformação com microrganismos isolados da biodiversidade brasileira.

Além disso, esses experimentos mostraram que os microrganismos avaliados apresentaram excelentes valores de enantiosseletividade, ou seja, $E > 30$, frente aos substratos.

Tabela 1. Comparação entre os ensaios enzimáticos para detecção de esterases e lipases utilizando substratos fluorogênicos e não-fluorogênicos

Microrganismos	Intensidade de fluorescência ^a			Dt _{1/2} (h) ^b		
	1	2	3	4	5	6
Ama 19	192 3	-	-	4,0	14	>24
Ama 32	530	195 7	-	2,0	1,5	>24
Ame 8	111	133 1	-	2,0	0,75	-
Ame 17	118	-	-	7,0	-	-

^a intensidade de fluorescência medida após 10 h de reação.

^b Intervalo de tempo necessário para conversão de 50 % do substrato.

Conclusões

Os ensaios de HTS permitiram a seleção de quatro microrganismos com potencial atividade hidrolítica de ésteres de cadeia curta, a qual foi confirmada através de experimentos de biocatálise convencional. Esses ensaios revelaram também que os microrganismos testados apresentam boa capacidade de resolução enantiomérica dos substratos, podendo ser futuramente utilizados para a obtenção de ésteres e álcoois de interesse industrial na forma enantiomericamente pura.

Agradecimentos

CNPq, FAPESP, FINEP, PETROBRÁS

¹ Hutchins, L. M.; Hunter, L.; Ehya, N.; Gibbs, M. D.; Bergquist, P. L.; Hutton, C. A *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 2975-2980.

