

Prospecção de genes biossintéticos visando ao isolamento de peptídeos não ribossomais em *Streptomyces* sp

Pedro L. R. da Cruz¹ (PG), Luciana G. de Oliveira¹ (PQ)

¹ Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Cidade Universitária Zeferino Vaz – Caixa Postal 6154, CEP 13084-970 – Campinas, São Paulo (Brasil)
E-mail: pedrocruz@hotmail.com

Palavras Chave: *Streptomyces*, genome mining, cryptic genes, Nonribosomal peptides

Introdução

Streptomyces são bactérias produtoras de importantes grupos de metabólitos incluindo peptídeos não ribossomais (NRPs). Os NRPs possuem destacada atividade biológica¹, como antitumoral e antibiótica, motivando seu isolamento.

Estes peptídeos são biossintetizados por um complexo enzimático, denominado peptídeo não ribossomal sintetase (NRPS), composto pelos domínios de adenilação, proteína carreadora de peptídila e condensação². Existe uma relação linear entre o gene, a enzima e a estrutura do peptídeo, de modo que é possível identificar um potencial metabólito produzido pelo microrganismo.

O conhecimento das seqüências de nucleotídeos do conjunto de genes possibilita a química de produtos naturais prever a estrutura do metabólito, facilitando a sua obtenção. A prospecção de genes (*genome mining*) tem se mostrado uma ferramenta extremamente útil na busca de novas moléculas bioativas³.

Resultados e Discussão

O microrganismo estudado foi uma *Streptomyces* sp, isolada de *Citrus* ssp, denominada B1. Para obter informações sobre a presença dos genes de NRPS, a seqüência do domínio de adenilação de 700 pares de bases (pb) foi amplificada utilizando *primers* específicos por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) (Figura 1). O fragmento amplificado foi clonado em um vetor de clonagem e sequenciado.

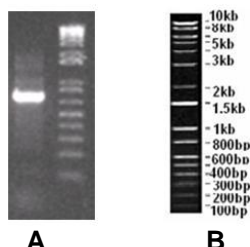


Figura 1. A. Amplificação do domínio de adenilação de 700 pb; B. Marcador de peso molecular

Empregando a ferramenta *blastp* foi possível fazer um alinhamento da seqüência de aminoácidos codificada pelos nucleotídeos, com outras seqüências disponíveis no banco de dados

do NCBI. O banco de dados gerou similaridade com seqüências de microrganismos envolvidas na biossíntese de NRPs. O domínio de adenilação amplificado apresentou 56% de identidade em relação a uma NRPS responsável pela produção da indigoidina, um pigmento azul, de *Streptomyces albus* como pode ser visualizado na tabela 1.

Tabela 1. Resultado do alinhamento da seqüência de aminoácidos do domínio de adenilação de B1

Microrganismo	Descrição	Identidade	e-value
<i>S. albus</i>	Produção de indigoidina	56 %	5e-51
<i>E. chrsanthermi</i>	Produção de indigoidina	48 %	2e-26
<i>V. indigofera</i>	Produção de indigoidina	50 %	2e-26

Culturas do microrganismo B1 em placas com meio contendo farinha de soja e manitol (SFM) levaram a produção de um pigmento azul, que se difunde no ágar. Porém, sua estrutura ainda não foi determinada. No presente momento estão sendo realizados o isolamento e a caracterização deste pigmento, para posterior confirmação da sua estrutura.

Conclusões

O presente trabalho mostrou um exemplo de prospecção de genes como ferramenta para identificar metabólitos secundários potencialmente produzidos pelo microrganismo B1.

O conjunto de genes que codificam para sistemas biossintéticos, e que não estão associados com metabólitos conhecidos, podem ser denominados genes crípticos, cuja busca é feita utilizando ferramentas de bioinformática (*genome mining*), possibilitando prever o metabólito por meio dos genes envolvidos em sua biossíntese.

Agradecimentos

Instituto de Química-Unicamp, FAPESP, IFS

¹ Weber, T.; Welzel, K.; Pelzer, S.; Vente, A.; Wohlleben, W. *J. Biotechnol.* **2003**, *106*, 221.

² Finking, R.; Marahiel, M. *Annu. Rev. Microbiol.* **2004**, *58*, 453.

³ Lautru, S.; Deeth, R.J.; Bailey, L.M.; Challis, G.L. *Nature Chem. Biol.* **2005**, *1*, 265.