

## Isolamento e Caracterização de uma Nova Lipase (LipC6G9) com Aplicações em Biocatálise

Viviane P. Martini<sup>a</sup> (PG)\*, Arnaldo Glogauer<sup>b</sup> (PG), Jorge Iulek<sup>c</sup> (PQ), Emanuel M. de Souza<sup>b</sup> (PQ), Marcelo Müller-Santos<sup>b</sup> (PQ), Fabio de O. Pedrosa<sup>b</sup> (PQ), Nadia Krieger<sup>a</sup> (PQ). [vipmarti@ig.com.br](mailto:vipmarti@ig.com.br)

<sup>a</sup> Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Centro Politécnico, Cep 81531-990, Curitiba-PR

<sup>b</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências-Bioquímica, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Centro Politécnico, Caixa Postal 19046, Cep 81.531-980, Curitiba-PR

<sup>c</sup> Departamento de Química, Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Campus Uvaranas, Cep 84070-210, Ponta Grossa-PR.

Palavras Chave: lipase, metagenômica, lipase chaperona, biocatálise.

### Introdução

A busca por novas lipases e esterases que sejam capazes de se adaptar a condições não-convencionais de biocatálise têm sido empreendida<sup>1</sup>. Diferentes abordagens vêm sendo utilizadas para a obtenção de biocatalisadores que possam melhor se adaptar em condições não-fisiológicas. Entre elas está a triagem em bibliotecas metagenômicas<sup>2</sup> (coleção de clones obtidos a partir de fragmentos de DNA coletados de amostras ambientais). O objetivo deste trabalho foi isolar e caracterizar uma nova lipase de uma biblioteca metagenômica para utilização em biocatálise.

### Resultados e Discussão

O clone C6G9 foi selecionado segundo a formação do seu halo de hidrólise contra trioleína, na biblioteca metagenômica SLP<sup>3</sup>. Para o seqüenciamento, foi utilizada a técnica de transposon. Após seqüenciamento, a seqüência consenso C6G9 foi submetida à análise "in silico" pelo programa BLASTX (NCBI)<sup>4</sup>. O gene da lipase (lipC6G9) apresentou 87% de identidade com a lipase de *Aeromonas hydrophila hydrophila* e o gene da foldase (lifC6G9), 65% de identidade com foldase da lipase do mesmo microrganismo. Foi realizada a co-expressão da lipase e de sua chaperona, uma vez que a expressão somente da lipase a produziu inativa. Testes de atividade para oito diferentes co-expressões da lipase mais chaperona (inteira e N-truncada) indicaram uma co-expressão de maior atividade, sendo esta selecionada para a purificação e caracterização da enzima. Para verificar a conservação da atividade lipolítica após o processo de purificação, foi realizado um zimograma da fração purificada da proteína LipC6G9. Foi possível verificar que a enzima continua ativa quando associada à sua chaperona. Foram realizados testes de atividade em pH stat usando o método titulométrico<sup>5</sup> com modificações, usando como substrato tricaprilina (Sigma). A enzima apresentou atividade de 1852, 1566 e 817 U/mg, respectivamente, contra os substratos tributirina, tricaprilina e trioleína, a 30 °C, pH 7,5. A enzima apresentou uma elevada atividade (1566 U/mg) a 30 °C, pH 7,5. Entre 10-50 °C a

34<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

enzima apresentou-se estável, a 60 °C a atividade diminuiu à metade. As medidas foram efetuadas depois da incubação por 1 h e a atividade residual foi medida a 30°C, pH 7,5. A atividade da enzima foi medida a 30 °C em uma ampla faixa de pH 5-11 e sua atividade manteve-se até o pH 10,5 (Figura 1).

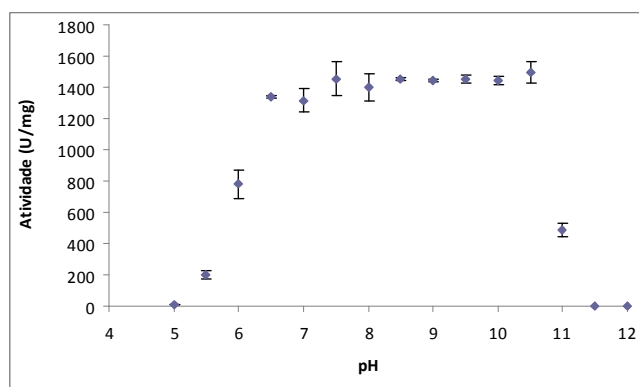


Figura 1. Atividade da LipC6G9 em diferentes pH.

### Conclusões

Neste trabalho, foi isolada e caracterizada uma nova lipase, ainda não descrita na literatura, à partir de uma biblioteca metagenômica. Os testes de expressão da lipase mostraram que ela precisa ser expressa concomitantemente com a sua chaperona para exibir atividade. A enzima apresenta características de alta atividade e estabilidade à temperatura e ao pH, que a tornam interessante para desenvolvimento de aplicações em biocatálise.

### Agradecimentos

A CAPES e CNPq.

<sup>1</sup> Otten, L.G., Hollmann, F., Arends I.W.C.E. *Trends in Biotechnology*, **2010**, *28*.

<sup>2</sup> Boutaiba S, Bhatnagar T, Hacene H, Mitchell D.A, Baratti J. J. *Mol Catalysis B: Enzymatic*, **2006**, *41*, 21-26.

<sup>3</sup> Glogauer, A. *Programa de Pós-graduação em Ciências (Bioquímica)*, Universidade Federal do Paraná. **2010**.

<sup>4</sup> NCBI- Nacional Center for Biological Information.

<sup>5</sup> Stuer, W.; Jaeger, K. E.; Winkler, U. K. *Journal of Bacteriology*. **1986**, *168*, 1070-10 74.