

Estudo do potencial biossintético em actinomicetos

Suelen R. Gomes¹ (IC), Valéria B. Riatto (PQ),^{2*} Luciana G. Oliveira¹ (PG) (vriatto@ufba.br)

¹ Laboratório de Biotecnologia e Biossíntese Combinatória, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Cidade Universitária Zeferino Vaz – Caixa Postal 6154, CEP 13084-970 – Campinas/SP (Brasil).

² Instituto de Química, UFBA, Campus de Ondina, Salvador, BA, 40170-115

Palavras Chave: actinomicetos, peptídeos não-ribossomais, policetídeos sintases

Introdução

Os policetídeos macrolídicos (PKs) e peptídeos não ribossomais (NRPs) pertencem a uma grande família de produtos naturais encontrados em bactérias, fungos e plantas. É conhecido que as regiões que codificam para a síntese das macromoléculas envolvidas na biossíntese dos PKs e NRPs no genoma são altamente conservadas. A partir delas, é possível desenhar *primers* que amplifiquem os trechos correspondentes aos domínios enzimáticos e desta forma prever se um determinado organismo apresenta potencial para a produção de policetídeos e peptídeos não ribossomais.¹

Este trabalho relata o estudo do potencial para biossintetizar metabólitos da classe dos NRPs e PKs em linhagens de actinomicetos isoladas em amostras de solo da região de Campinas – SP.

Resultados e Discussão

O trabalho inicial envolveu o isolamento em meio seletivo contendo propanoato de sódio (AIA-prop) de 31 linhagens puras de actinomicetos isolados de amostras de solo coletadas na região de Campinas. Após o processo de triagem morfológica, os actinomicetos foram submetidos a um teste para avaliação da atividade antibiótica. As atividades inibitórias das linhagens mais promissoras frente a *S. typhymurium*, *E. coli*, *B. megaterium*, *S. aureus* e *C. albicans* estão relacionadas na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados para o teste de inibição.

	C7	C18	D1	D4	D5	D14	E1	F2
<i>Salmonella typhymurium</i>	-	-	+	+	-	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	+	-	+	+	-	-	+	+
<i>Bacillus megaterium</i>	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-

(+) inibição; (-) sem inibição

O teste de inibição forneceu provas de que o microrganismo difundiu antibiótico, mas, não necessariamente, pertença a classe dos metabólitos secundários desejados.

Adicionalmente foram realizados testes em placa contendo meio para difusão de metabólitos e cromoazuroil sulfonato (Anti-II/CAS). Este teste evidenciou a produção de metabólitos da classe dos sideróforos para todos os microrganismos avaliados. Apesar da natureza química dos metabólitos observados estar sob investigação, muitos sideróforos pertencem a classe dos hidroxamatos, que remetem ao grande grupo dos peptídeos não ribossomais ou são biossintetizados por vias mistas de PKS e NRPS.

Estes resultados levaram-nos a avaliar o potencial para biossintetizar PKs e NRPs utilizando provas metabólicas. Foram realizadas triagens por PCR, seguindo o protocolo descrito por Ayuso e Genilloud.¹ Os melhores resultados foram obtidos para ampliações de domínios interligados de cetossintase e metilmalonil transferase (PKS) e para seqüências de adenilação em NRPS.

Foi observado o aparecimento de bandas na região de 700 pb, o que permite afirmar que o genoma das amostras contém uma sequência apta a produção de metabólitos da classe dos NRPs. Similarmente, bandas de aproximadamente 1500 pb correspondentes a ampliações de domínios KS+AT foram observadas para todos os 8 microrganismos estudados.

Conclusões

Os resultados obtidos possibilitam afirmar que as linhagens em estudo apresentam potencial para produção de PKs e NRPs.

Apesar das atividades bioquímicas estudadas não selecionarem somente as entidades químicas dos grupos dos NRPs e PKs, elas servem para, em conjunto, ajudar a eleger os microrganismos mais promissores para estudos posteriores.

As próximas etapas consistem na subclonagem dos fragmentos amplificados, seqüenciamento, desreplicação metabólica a partir das sequências amplificadas por PCR.

Agradecimentos

PIBIC/CNPQ, FAPESP, IFS e IQ-UNICAMP.

¹ Ayuso, A.; Clark, D.; Gonzales, I.; Salazar, O.; Anderson, A.; Genilloud, O. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2005**, *67*, 795. Ayuso-Sacido, A.; Genilloud, O. *Microbial Ecology* **2005**, *49*, 10.