

Biossíntese e propriedades de lipopeptídeos de *Bacillus subtilis* produzidos em meios de cultura alternativos

Jéssica Herculano (IC)^{1,*}, Tatiani B. de Lima (IC)¹, Nathália K. Benetazzo (IC)¹, Maria E. Silva-Stenico (PQ)² e Augusto Etchegaray (PQ)¹ *e-mail: jess.herculano@gmail.com

¹Faculdade de Química, PUC-Campinas, Rodovia D. Pedro I, Km 136, CEP 13086-900, Campinas, SP. ²CENA, USP, Avenida Centenário, 303, Caixa Postal 96, CEP 13.400-970, Piracicaba, SP.

Palavras Chave: peptídeos não ribossômicos, lipopeptídeos, surfactina, cianobactérias, *Microcystis aeruginosa*

Introdução

Peptídeos não-ribossômicos (PNRs), devido à biossíntese e aplicações podem ser considerados entre os produtos naturais com maior potencial biotecnológico. A biossíntese segue um mecanismo de linha de montagem envolvendo intermediários ativos acoplados em regiões específicas de enzimas multifuncionais (Figura 1).¹ A produção, a partir de cerca de 300 monômeros diferentes, utiliza uma série de atividades enzimáticas, gerando grande diversidade estrutural, resultando em uma enorme variedade de metabólitos com propriedades bioativas.² Além disso, a fermentação de microrganismos pode ser feita em biorreatores, sendo estes muitas vezes excretados para o meio de cultura, possibilitando a extração contínua de princípio ativo. No presente trabalho apresentamos a produção de lipopeptídeos de *Bacillus subtilis*, em especial surfactinas, demonstrando aplicações deste biosurfactante para remediação ambiental. Considerando-se os aspectos ambientais relacionados à produção, devido à utilização de várias fontes de carbono, PNRs podem ser produzidos em condições sustentáveis.

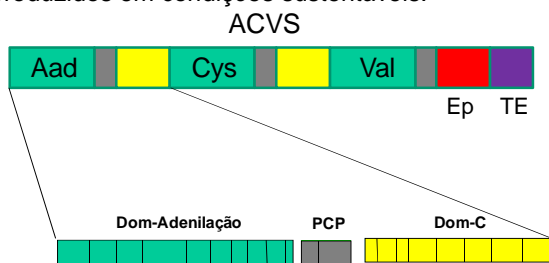


Figura 1. Esquema da biossíntese do tripeptídeo δ -L- α -aminoadipil-L-cisteinil-D-valina (ACV), precursor da penicilina. Em detalhes os domínios da enzima ACV sintetase, envolvidos na ativação dos aminoácidos.

Resultados e Discussão

O objetivo deste trabalho é apresentar a síntese não ribossômica de peptídeos avaliando a produção de surfactinas por *B. subtilis* em meios de cultura alternativos. A cepa 0G de *B. subtilis* foi inoculada em meio contendo glicerol como fonte de carbono e arginina como fonte de nitrogênio, além de meios utilizando restos de alimentos. A Figura 2 apresenta

o espectro de massas de um extrato parcialmente purificado de *B. subtilis* produzido em meio de cultura utilizando arginina como fonte de nitrogênio.

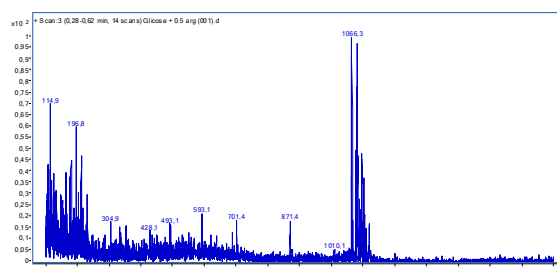


Figura 2. Extrato de surfactina, m/z 1065 (MH⁺), após precipitação com HCl, pH 2,0.

A presença de cianotoxinas em águas superficiais é um problema de saúde pública. A Tabela 1 apresenta a atividade inibitória de extratos de *B. subtilis* contra a cianobactéria *Microcystis aeruginosa* produtora de microcistinas, PNRs extremamente tóxicos.³ Na Figura 3 demonstra-se a propriedade da surfactina para remoção de metais.

Tabela 1. Inibição do crescimento de *M. aeruginosa*

Extrato de Bacillus	Inibição (%)	Desvio padrão
Restos de alimentos	46,66	0,0116
l-glicose / arginina	60,01	0,00586

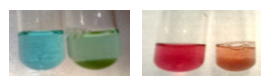


Figura 3. Precipitação de cobre e níquel após tratamento com extratos de surfactina e centrifugação.

Conclusões

Peptídeos não ribossômicos são produtos naturais com variadas aplicações incluindo bioremediação.

Agradecimentos

À PUC-Campinas, Fapesp e CNPq.

¹Etchegaray, A.; Silva-Stenico, M. E.; Moon, D. H.; Tsai, S. M. *Microbiol. Res.* **2004**, *159*, 425.

²Etchegaray, A.; Castro-Bueno, C.; Melo, I. S.; Tsai, S. M.; Fiore, M. F.; Silva-Stenico, M. E.; Moraes, L. A. B.; Teschke, O. *Arch. Microbiol.* **2008**, *190*, 611.

³Etchegaray, A.; Bueno, C. C.; Tesche, O. *Quim. Nova*, **2010**, *33*, 1843.