

Suelen R. Gomes e Luciana Gonzaga de Oliveira

Laboratório de Biotecnologia e Biossíntese Combinatória  
Departamento de Química Orgânica – Instituto de Química - UNICAMP

E-mail: g072400@iqm.unicamp.br

Palavras-Chave: Isolamento – *Streptomyces* – Peptídeos não ribossomais

## Introdução

Os policetídeos macrolídicos (PKs) e peptídeos não ribossomais (NRPs) pertencem a uma grande família de produtos naturais encontrados em bactérias, fungos e plantas. A diversidade de atividades biológicas associada a esses metabólitos os tornam um importante foco na pesquisa biofarmacêutica.

Sabe-se 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* (oligonucleotídeos) que possam em condições adequadas amplificar os trechos correspondentes a estes domínios enzimáticos e desta forma prever se um determinado organismo apresenta potencial para a produção de policetídeos, entre outros metabólitos.<sup>1</sup>

Este trabalho descreve o isolamento, triagem da atividade antibiótica e triagem do potencial para biossintetizar metabólitos da classe dos NRPs em linhagens de *Streptomyces* isoladas em amostras de solo do Estado de SP.

## Metodologia

O projeto foi dividido em três etapas:

- 1ª etapa: triagem morfológica (meio seletivo)
- 2ª etapa: triagem da atividade biológica (testes biológicos e bioquímicos)
- 3ª etapa: triagem pela busca de uma entidade química (provas metabólicas)

Na 2ª etapa, a fim de uma análise qualitativa dos metabólitos produzidos, foi feito um teste de inibição (Figura 1), no qual as amostras foram semeadas na direção vertical da placa e os microrganismos patogênicos na direção horizontal.

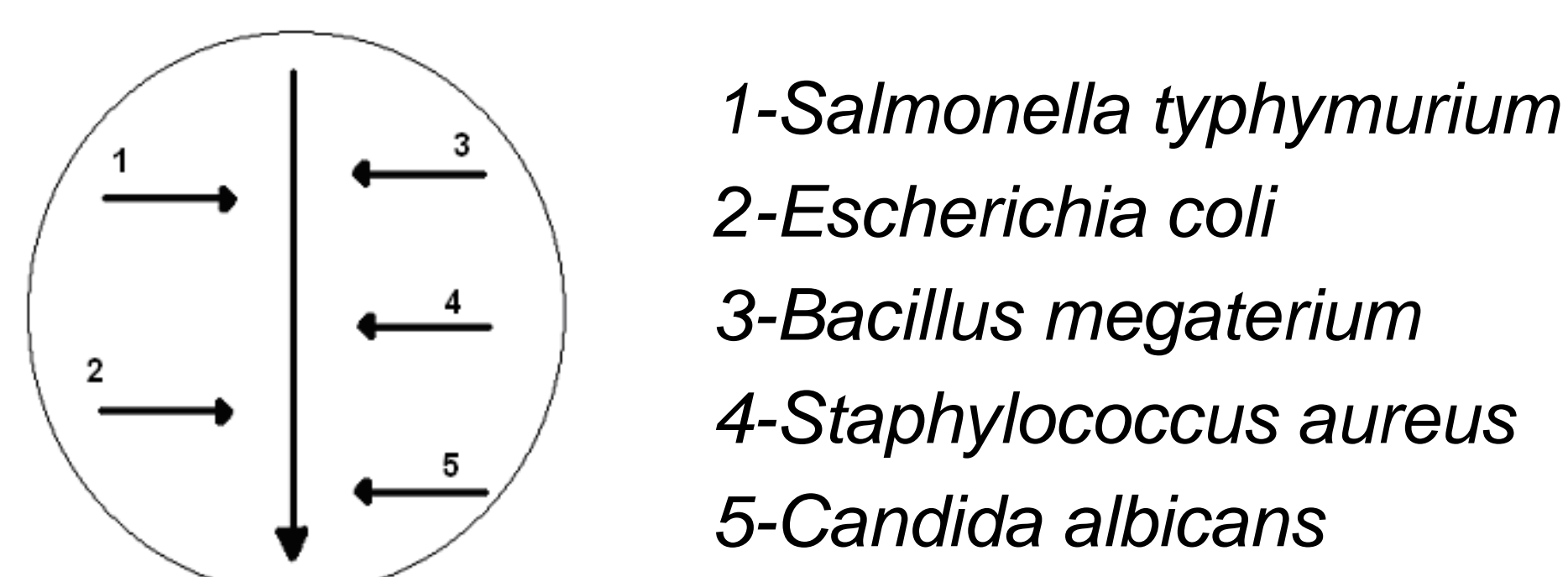


Figura 1. Esquema representa teste de inibição

O DNA extraído<sup>2</sup> das amostras foi utilizado nos experimentos de amplificação e análise qualitativa do PCR. O experimento de PCR utiliza de provas metabólicas para amplificar seqüências conservadas dos domínios de adenilação em para as enzimas da classe dos peptídeos não ribossomais sintetase (NRPS).

## Resultados

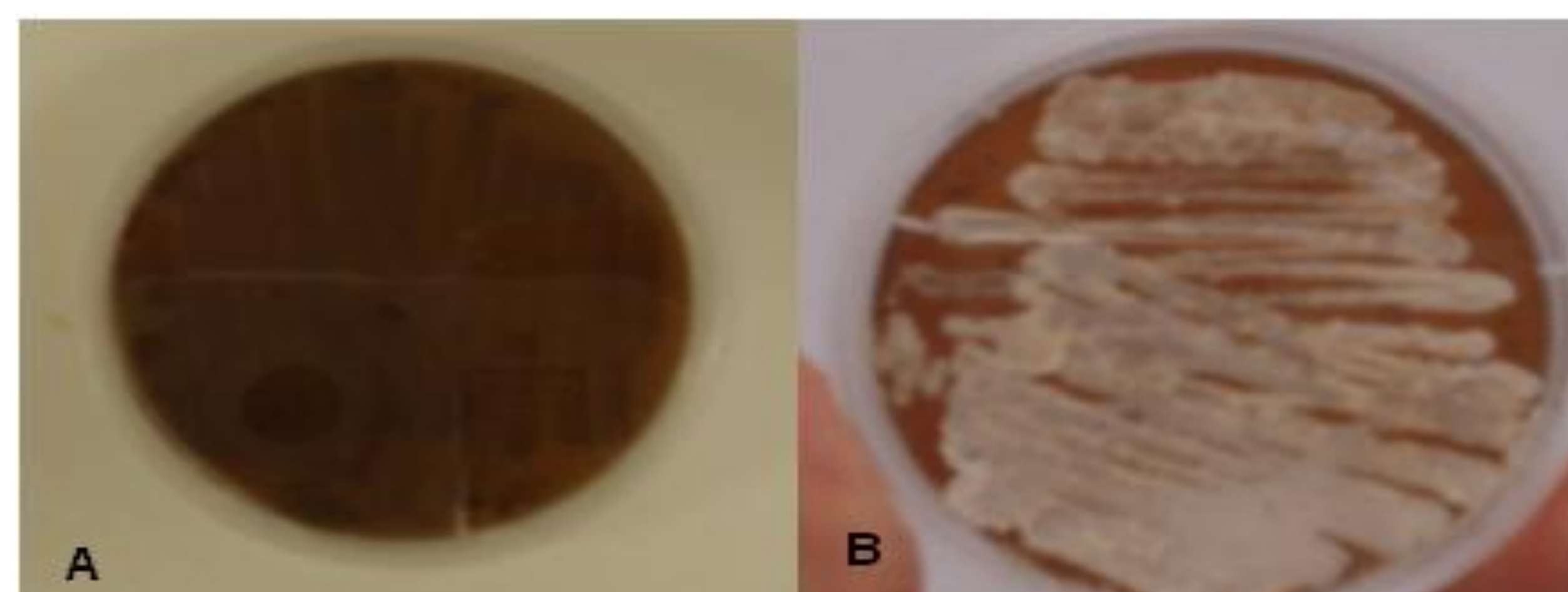


Figura 2. Difusão de metabólitos no meio ISP-2 de uma cultura isolada de actinomicetos

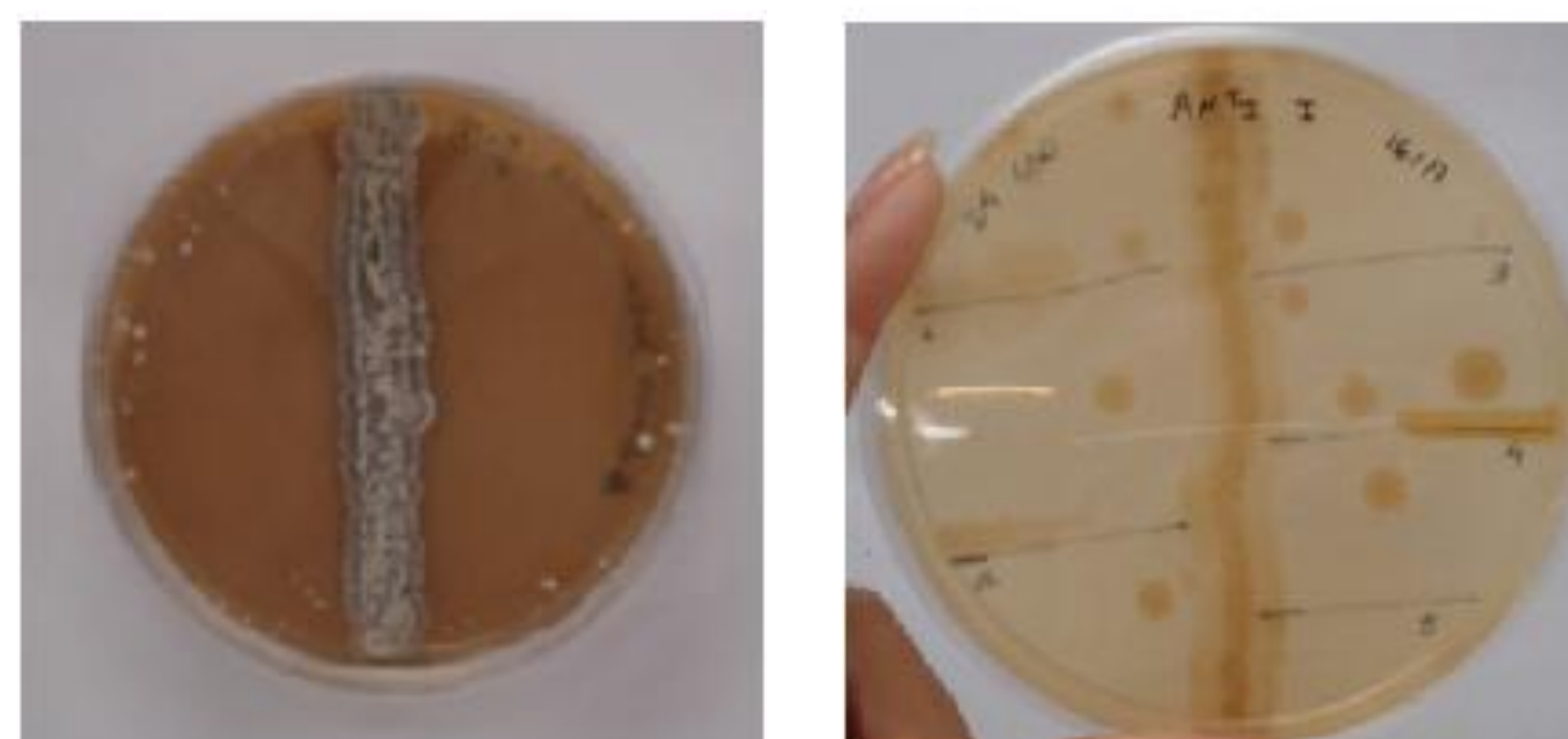


Figura 3. Resultado do teste de inibição em meio Anti-I para uma cultura de actinomicetos.

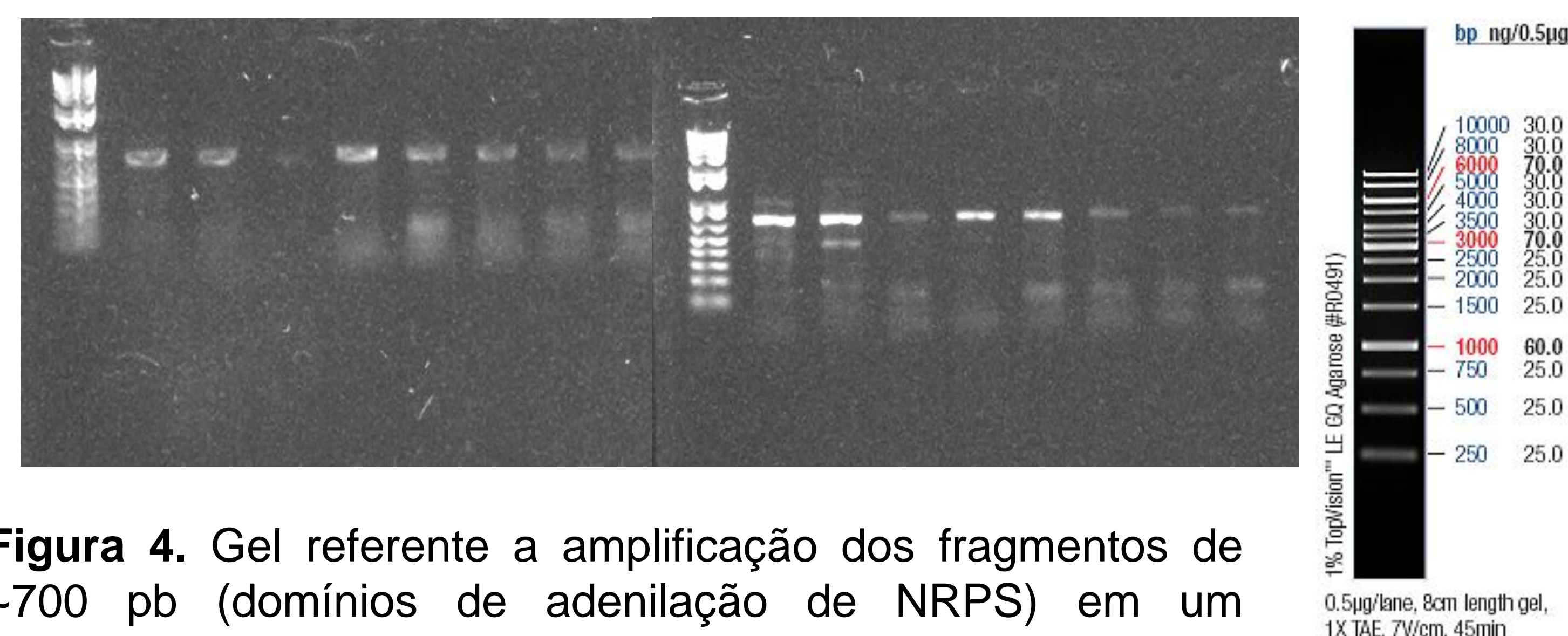


Figura 4. Gel referente a amplificação dos fragmentos de ~700 pb (domínios de adenilação de NRPS) em um experimento de PCR

## Conclusões

Os resultados obtidos possibilitam afirmar que o genoma das amostras contém uma seqüência apta a produção de metabólitos da classe dos peptídeos não ribossomais. A partir dos resultados obtidos serão feitas análises filogenéticas das sequências obtidas e cultivo em diferentes meios para busca das entidades químicas.

## Referências Bibliográficas

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.
2. Sharma, A. D. ; Singh, J. *Anal. Biochem.*, **2005**, 337,354.

## Apoio Financeiro