

Avaliação do perfil metabólico produzido pela linhagem *Streptomyces wadayamensis* A23

Luciana G. de Oliveira (PQ), Ana B. Gonçalves (IC).

Resumo

O estudo do genoma de diversas linhagens de *Streptomyces* revelou uma grande abundância de *clusters* de genes que codificam metabólitos secundários muitos dos quais apresentam atividade biológica.¹ Neste trabalho foram realizadas análises de espectros de massa de cultivos da linhagem *Streptomyces wadayamensis* A23 que confirmaram a produção de diversos metabólitos como desferrioxaminas B e E, antimicinas, manopeptimicina, aerobactina e outros inéditos. Uma segunda etapa visava à busca guiada de moléculas alvo com experimentos de aproximação genomotópica através da adição de substratos marcados isotopicamente e que são inseridos na estrutura molecular durante a biossíntese.²

Palavras Chave: aproximação genomotópica, *Streptomyces*, metabólitos.

Introdução

Micro-organismos do gênero *Streptomyces* são conhecidos por produzir uma grande diversidade de metabólitos secundários. Muito destes metabólitos ainda não tem função atribuída pelo que seu papel no organismo não está completamente elucidado.³ Dentre esta variedade de metabólitos destacam os policetídeos e peptídeos não-ribossomais por constituir um grupo de moléculas que podem apresentar atividades antimicrobianas, antifúngica, antiparasitária e antitumoral entre outras.⁴

Este trabalho descreve a avaliação do perfil metabólito da bactéria *Streptomyces wadayamensis* com ênfase na descoberta de novos policetídeos, terpenóides e peptídeos não-ribossomais.

Resultados e Discussão

A linhagem *Streptomyces wadayamensis* A23 foi cultivada em diferentes meios de cultura. A fermentação foi realizada por 7 dias a 30 °C. Ao completar este tempo, foi realizada uma extração com acetato de etila e os extratos obtidos foram tratados com metanol e analisados por UPLC-MS (modo positivo). Os perfis cromatográficos da maior parte das amostras revelou a presença de espécies químicas similares.

Com as informações geradas pelas análises UPLC-MS foi realizada uma busca de possíveis alvos já relatados na literatura, com o auxílio da base de dados *Dictionary of Natural Products*.⁵

A partir da combinação dos dados, encontraram-se diversos metabólitos já conhecidos, tais como desferrioxaminas B e E (*m/z* 562 e 601), antimicinas A1, A4, A7 e A8 (*m/z* 547, 505, 519 e 533), manopeptimicina (*m/z* 1294), aerobactina

(*m/z* 564) e enterobactina (*m/z* 669), além de moléculas cujas estruturas são desconhecidas, como *m/z* 914 e 639. A presença das antimicinas e desferrioxaminas confirmou a previsão realizada na análise do genoma de *S. wadayamensis* A23 que mostrava a presença dos *clusters* que codificam para estes metabólitos.

Posteriormente realizou-se a adição de ¹⁵N-fenilalanina em todos os meios de cultivo. Um dos meios (GYM) apresentou um perfil interessante de incorporação do substrato. Então se realizou a adição de D-glicose-¹³C₆ e diversos aminoácidos marcados com ¹⁵N a este meio. Os espectros obtidos estão sendo estudados.

Reações de PCR foram realizadas e observou-se que o gene de interesse possui 2000 pb. A próxima etapa envolve a triagem de colônias de *E. coli* onde o DNA recombinante proveniente da *Streptomyces* será inserido.

Conclusões

A avaliação da linhagem *Streptomyces wadayamensis* A23 permitiu a identificação de várias moléculas, algumas já descritas na literatura e outras inéditas, o que evidencia a grande capacidade da linhagem em biossintetizar outras moléculas.

Agradecimentos

IQ – UNICAMP

¹De Oliveira, L. G.; Pupo, M. T.; Vieira, P. C. *Quim. Nova*, 2013, 36, 1577-1586

²Gross, H.; Stockwell, O. V.; Henkels, D. M.; Nowak-Thompson, B.; Loper, E. J.; Gerwick H. W. *Chemistry & Biology*, 2007, 14, 53–63

³Dewick, P.M. *Medical Natural Products*, John Wiley & Sons, Ltd, UK, 2002

⁴Rev. bras. plantas med. vol.15 no.4 supl.1 Botucatu 2013

⁵<http://dnpc.chemnetbase.com/>