

ISOLAMENTO DE UM FRAGMENTO DO GENE DE LIPASE DE *Staphylococcus xylosus* U5 E AD1

Fongaro, G.^{*1}; Ribeiro, J. B.²; Bertol, T. M.²; Fiorentini, A. M.³; Sawitzki, M. C.⁴; Peixoto, J. O.²; Brod, F. C. A.⁵; Arisi, A. C. M.⁵

¹Graduanda do Curso de Ciências Biológicas, Universidade do Contestado, Campus Concórdia, Bolsista na Embrapa CNPQ / PIBIC¹. E-mail: gislainefongaro@gmail.com

²Embrapa Suínos e Aves

³Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas/RS.

⁴Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana.

⁵Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-Chave: *Staphylococcus xylosus*, lipase, cultivo Iniciador.

Introdução

As atividades enzimáticas são responsáveis por benéficas no sabor dos produtos fermentados. Destacam-se dentre as enzimas, as lipases bacterianas, a quais constituem um grupo de proteínas com grande potencial para aplicação biotecnológica, devido principalmente à versatilidade de suas propriedades físico-químicas e relativa facilidade de obtenção em massa (FIORENTINI, 2008).

Staphylococcus xylosus é um importante microrganismo envolvido na fermentação de produtos cárneos. São eficientes produtores de lipases e atuam melhorando o sabor do alimento, o que torna tal bactéria uma ferramenta de grande utilidade para a biotecnologia (MAURIELLO *et al.*, 2004). Objetivou-se neste trabalho isolar um fragmento de DNA correspondente a um gene que codifica lipase em *S. xylosus*, linhagens U5 e AD1.

Material e Métodos

O isolamento do fragmento do gene de lipase foi realizado por meio da técnica da reação da cadeia da polimerase (PCR) no Laboratório de Sanidade e Genética Animal da Embrapa Suínos e Aves em Concórdia – SC. Utilizaram-se amostras de DNA genômico de *S. xylosus* linhagens U5 e AD1, procedentes da Universidade Federal de Santa Catarina. Foi desenhado um par de primers a partir da sequência genômica de *Staphylococcus carnosus*, depositada no GenBank (AM295250.1), sendo eles: LIP4F-5'AGGAGCAAGCATGCTGAAAT3' e LIP4R-5'GCACACCCTGCATTTCTTCT3'. As condições de amplificação foram 94°C por 5 minutos, 32 ciclos de: 94°C por 1 minuto, 50°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto, seguido de extensão final a 72°C por 10 minutos. Em seguida, 10 µL da reação foram submetidos eletroforese em gel de agarose 1% sendo a imagem do gel obtida por meio do sistema de fotodocumentação L. PIX Transiluminator (Loccus Biotecnologia). As bandas contendo o fragmento do tamanho esperado foram retiradas da agarose e o DNA purificado com auxílio Kit GFX "PCR DNA and gel purification" segundo instruções do fabricante (GE Healthcare®).

Resultados e Discussões

A eficiência da amplificação foi verificada em Gel de Agarose 1%. Foram observados *amplicons* inespecíficos juntamente com o fragmento de 1000 pb, esperado para a espécie (Fig. 1). Os fragmentos de DNA específicos foram purificados e eluídos em água desionizada na concentração estimada de 30 ng/µL (Fig. 2). O *amplicom* purificado foi armazenado a -20°C

para aplicações posteriores possibilitando a caracterização molecular das linhagens visando aplicação biotecnológica.

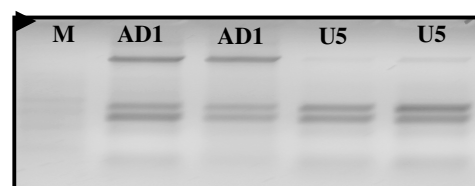


Fig. 1. Amplificação do fragmento do gene de lipase nas linhagens AD1 e U5 de *S. xylosus*. M: Marcador de peso molecular 1Kb;

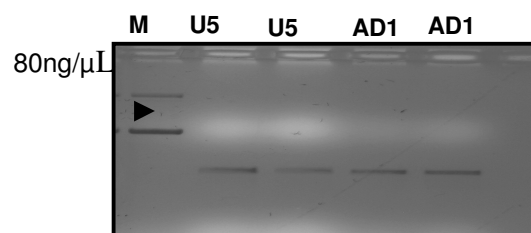


Fig. 2. Purificação do fragmento do gene de lipase nas linhagens U5 e AD1 de *S. xylosus*.

O resultado obtido neste estudo poderá subsidiar novas pesquisas para o desenvolvimento de cultivos iniciadores (fermentos cárneos) de interesse para a agroindústria, utilizando linhagens bacterianas da biodiversidade brasileira. Isto pode levar a melhoria da qualidade do produto final, visto que as linhagens U5 e AD1 foram originalmente isoladas de salames coloniais produzidos na região sul do Brasil e ainda poderá diminuir a dependência de fermentos importados.

Conclusões

Um fragmento de 1000pb do gene de lipase das linhagens U5 e AD1 de *S. xylosus* foi isolado e encontra-se disponível para estudos posteriores visando ao desenvolvimento de sistemas de expressão/produção de lipases com potencial biotecnológico, bem como, para caracterização molecular dessas linhagens.

Referências

1. FIORENTINI, A. M. Caracterização e propriedades tecnológicas de *Staphylococcus xylosus* isoladas de salames artesanais e aplicação como cultura iniciadora em salame tipo milano. tese. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.
2. MAURIELLO, G. et al. Isolation and technological properties of coagulase negative staphylococci from fermented sausages of Southern Italy. *Meat Science*. v.67,p.149-158, 2004.