

Triagem funcional de β -glicosidases em bibliotecas metagenômicas e colônias isoladas do solo do Cerrado

Jessica Carvalho Bergmann¹, Luís Fernando Fernandes Marins², Betania Ferraz Quirino³

Resumo

β -glicosidases (BGLs) são uma classe de enzimas que hidrolisam ligações glicosídicas β -1,4 do resíduo terminal não redutor do β -D-glicosídeo, liberando glicose. Na indústria, essas enzimas são utilizadas com diferentes propósitos, como na produção de vinho e sucos, para melhorar sabor e aroma; em biorrefinarias, para a degradação de celulose; em medicamentos e suplementos alimentares, liberando compostos bioativos de glicosídeos encontrados em plantas, entre outras aplicações. Porém as β -glicosidases são inibidas pelo produto de sua própria ação catalítica, ou seja, a glicose. Uma alternativa atraente é gerar β -glicosidases mutantes por meio da engenharia enzimática, de forma a otimizar essas enzimas para que sejam tolerantes à glicose e, portanto, tenham maior aplicação industrial. O objetivo deste trabalho foi buscar clones de β -glicosidases com potencial biotecnológico em bibliotecas metagenômicas construídas a partir do solo da Amazônia, de rúmen de caprino e de comunidade microbiana degradadora de biomassa vegetal, e em colônias de bactérias isoladas do solo do Cerrado. As triagens funcionais para atividade de β -glicosidases foram realizadas plaqueando-se as bibliotecas e colônias em placas contendo citrato férrico e esculina. Clones que produzem β -glicosidase formam um halo preto, pois degradam a esculina formando esculetina, que reage com o citrato férrico, formando um precipitado. Os clones positivos foram testados em pNPG (*p-nitrophenyl- β -D-glucoopyranoside*), que é um substrato derivado sintético da glicose e, portanto, mais específico. Foram triados aproximadamente 52.500 clones da biblioteca de solo da Amazônia; 34.500 clones da biblioteca de rúmen de caprino e 105.000 clones da biblioteca da comunidade degradadora de biomassa, e encontraram-se cinco clones com atividade de β -glicosidase. Os clones foram testados para atividade em pNPG, sendo que o clone proveniente da biblioteca de rúmen de caprino foi o único que apresentou atividade nesse substrato. Das 153 colônias isoladas do solo de Cerrado, quarenta e três apresentaram atividade de β -glicosidase em meio com esculina. Os microambientes degradadores de biomassa, como solo e rúmen de caprino, são boas fontes de enzimas β -glicosidases.

Termos para indexação: β -glicosidases, triagem funcional, bibliotecas metagenômicas.

¹ Bióloga, doutora em Ciência Genômicas e Biotecnologia, Universidade Católica de Brasília, jessica.bergmann@colaborador.embrapa.br

² Oceanólogo, doutor em Oceanografia Biológica, Universidade Federal do Rio Grande, dqmluf@furg.br

³ Bióloga, doutora em Biologia Molecular e Celular, Embrapa Agroenergia, betania.quirino@embrapa.br