

## Diferenciação de isolados bacterianos com base no gene de Fe-hidrogenases

Catarina Pereira<sup>1,\*†</sup>, Joana Nunes<sup>1,\*</sup>, Melissa Rocha<sup>1,\*</sup> e Patrícia Moura<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Escola Superior de Saúde Egas Moniz, Quinta da Granja, 2859-511 Monte da Caparica

<sup>2</sup> LNEG – Laboratório Nacional de Energia e Geologia, Unidade de Bioenergia, Estrada do Paço do Lumiar 22, 1649-038 Lisboa

†Corresponding author: [catarinamfpereira@hotmail.com](mailto:catarinamfpereira@hotmail.com)

\*estes autores contribuíram de igual modo para este trabalho.

O processo fermentativo de produção de H<sub>2</sub> por microrganismos depende fundamentalmente da presença de metaloenzimas designadas por hidrogenases. As hidrogenases são enzimas envolvidas no metabolismo do H<sub>2</sub>, capazes de produzir ou consumir hidrogénio molecular, em processos relacionados com a transferência de electrões e obtenção de energia. Elas catalisam a reacção reversível:  $H_2 \leftrightarrow 2H^+ + 2e^-$  [1]. As hidrogenases dividem-se em classes filogeneticamente distintas, caracterizadas pelas diferentes subunidades ou domínios que acomodam o centro catalítico: as metalo-hidrogenases e as hidrogenases não metálicas. As metalo-hidrogenases em particular podem ser divididas em dois tipos diferentes, conforme o conteúdo metálico do seu centro catalítico: as que contêm apenas ferro ([FeFe]-H<sub>2ases</sub>) e as que contêm níquel e ferro ([NiFe]-H<sub>2ases</sub>), e que por vezes contêm também selénio no seu centro catalítico ([NiFe(Se)]-H<sub>2ases</sub>) [2]. As [FeFe]-H<sub>2ases</sub>, existentes apenas em bactérias anaeróbias e num pequeno número de algas verdes, e em particular o gene *hydA* de [FeFe]-H<sub>2ases</sub>, que é o principal gene envolvido na produção de H<sub>2</sub>, são considerados um biomarcador útil para examinar a diversidade e distribuição de microrganismos produtores de hidrogénio.

A população utilizada no presente estudo era constituída por 14 isolados bacterianos (8 aeróbios e 6 anaeróbios). Foram desenhados primers específicos de *hydA* para caracterização de isolados produtores de hidrogénio, e os resultados foram comparados com o produto de amplificação com primers da literatura [3]. Em paralelo foi efectuada uma análise de diferenciação molecular entre bactérias aeróbias e anaeróbias, com recurso às técnicas de ERIC-PCR e RAPD-PCR. Apenas um de 3 pares de primers desenhados neste trabalho permitiu melhores resultados de amplificação, embora não os esperados. Os resultados obtidos por ERIC-PCR permitiram a diferenciação dos isolados bacterianos segundo os 2 grupos iniciais (bactérias aeróbias e anaeróbias), podendo-se ainda distinguir, dentro destes grupos, alguns isolados com perfis moleculares semelhantes. Os primers da literatura permitiram a obtenção de produtos de amplificação com o tamanho esperado em 6 isolados, identificados como microrganismos que contêm o gene *hydA* de [FeFe]-H<sub>2ases</sub>.

[1] Vignais P.M. *et al.* (2001) Classification and phylogeny of hydrogenases. *FEMS Microb Rev*, 25: 455-501.

[2] Frey, M. (2002) Hydrogenases: Hydrogen-Activating Enzymes. *Chem Bio Chem*, 3: 153-160.

[3] Versalovic, E. *et al.* (1991) Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Res*, 19: 6823-6831.