

## TRIAGEM MOLECULAR DO GENE *Phac* DE VIA SÍNTESE DE POLIHIDROXIALCANOATOS (PHAs) EM BACTÉRIAS ISOLADAS DA AMAZÔNIA

Monica Teixeira<sup>1</sup>, Ricardo de M. Katak<sup>2</sup>, Elerson M. Rocha<sup>3</sup>, Cristiano A. de Souza<sup>4</sup>, Veranilce A. Muniz<sup>5</sup>, Cynara C. Cruz<sup>6</sup>.

1. Estudante de IC do Centro de Estudos Superiores de Parintins – CESP/UEA; [\\*mteixeira660@gmail.com](mailto:*mteixeira660@gmail.com)
2. Estudante de Doutorado em Biotecnologia - PPGBIOTEC/UFAM;
3. Estudante de Doutorado em Biotecnologia – PPGBIOTC/UFAM;
4. Mestre em Biotecnologia – PPGMBT/UEA
5. Graduada em Ciências biológicas – Universidade do Estado do Amazonas - CESP/UEA;
6. Pesquisadora do curso de Ciências Biológicas CESP/UEA;

Palavras Chave: Biopolímeros, microbiota amazônica, PHA sintases.

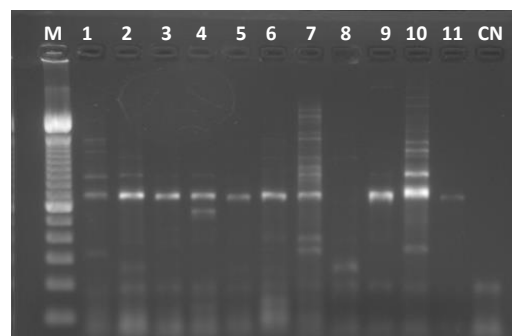
### Introdução

Poli-hidroxi-alcenoatos (PHAs) são macromoléculas produzidas por bactérias, fungos e plantas como armazenamento de carbono e energia (LAYCOCK *et al.*, 2014). Os PHAs apresentam propriedades físicas e químicas semelhantes aos plásticos petroquímicos. Além disso, possuem uma gama de aplicações biotecnológicas, farmacêuticas e médicas. No entanto, a busca de novas linhagens bacterianas produtoras de poli-hidroxi-alcenoatos oriundos da microbiota Amazônica, torna-se uma estratégia interessante para esta Região. A síntese de PHAs, podem ser codificadas por genes e, por vezes *PhaC* e *PhaE* um gene adicional ou *PhaR*, são enzimas chaves para produzir PHA. *PhaCs* catalisam a conversão de substratos (R) -3-hidroxiacil-CoA para PHAs. Portanto, este estudo, tem como objetivo detectar bactérias isoladas de diferentes ambientes Amazônicos portadores do gene *Phac* da via metabólica da síntese de poli-hidroxi-alcenoatos (PHAs) por PCR, e selecionar bactérias que apresentam o potencial para os biopolímeros.

### Resultados e Discussão

As linhagens estudadas foram isoladas de diferentes ambientes Amazônicos como solo, águas e plantas, em seguida foram purificadas e caracterizadas pelo método de Gram. O DNA genômico foi amplificado pelo gene *Phac* com os primers GD (5'-GTGCCGCC(GC)(CT)(AG)(GC)ATCAACAAGT-3' e 5'-GTAGTTCCA(GC)A(CT)CAGGTCGTT-3' e realizadas em termociclador Thermal Cycler®. O produto amplificado foi confirmado com eletroforese em gel de agarose a 1,3 %, e corados com gel red.

Considerando os resultados de amplificação dos fragmentos de DNA do gene *Phac*, de onze colônias testadas, dez linhagens foram positivas para a presença do gene com bandas esperadas de 550 pb. (figura 1). Este estudo revela a presença de linhagens amazônicas portadoras de genes para síntese de PHA.



**Figura 1.** Perfil eletroforético de amplificação do DNA do gene *PhaC* em Bactérias isoladas da Amazônia. **Coluna 01:** Marcador Molecular 1Kb; **coluna 02:** ASAP1.4NA, **coluna 03:** P6.1NA; **coluna 04:** ASAP1.3NA; **coluna 05:** SAPAP2.3NA; **coluna 06:** AAP1NA; **coluna 07:** LAP2.4NA; **coluna 08:** P4.3NA; **coluna 09:** LA2NA; **coluna 10:** LAP3.3LB; **coluna 11:** P4.2NA; **coluna 12:** Controle negativo.

Os genes codificantes desta enzima representam as moléculas alvo para detecção de novas linhagens bacterianas produtoras de PHAs nas mais diversas amostras ambientais. O gene *PhaC* é o mais importante, isto deve o fato de que o codificador para enzima chave da última etapa da via metabólica de síntese de PHAs (SHEU *et al.*, 2000).

### Conclusões

Foram encontradas 10 linhagem portadoras do gene que codifica a síntese de poli-hidroxi-alcenoatos em linhagens isoladas de diferentes ambientes amazônicos. Portanto, o método de PCR mostrou-se eficiente e rápida para selecionar bactérias potencialmente portadoras de genes para síntese de poli-hidroxi-alcenoatos, tornando-se uma grande ferramenta para o estudo da microbiota Amazônica.

### Agradecimentos

Fundação de Amparo á pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM).  
Centro de Estudos Superiores de Parintins CESP/UEA.

SHEU, D.S.; WANG, Y.T; LEE, CY. **Rapid detection of polyhydroxyalkanoate-accumulating bacteria isolated from the environment by colony PCR.** Microbiology. 146:2019-2035, 2000.

B. LAYCOCK, P. HALLEY, S. PRATT, A. WERKER, AND P. LANT, "The chemomechanical properties of microbial polyhydroxyalkanoates," **Progress in Polymer.** Science, vol. 39, no. 2, pp. 397–442, 2014.