



V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA 05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

Identificação e Caracterização *in silico* de uma Nova Lipase a partir de uma Biblioteca Metagenômica

Rocío Cuaspa¹, Helisson Faoro², Marco A. S. de Oliveira¹, Fabio O. Pedrosa¹, Emanuel M. de Souza¹ e Leda S. Chubatsu¹

¹Universidade Federal do Paraná – Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular.
Caixa Postal 19046 – CEP 81531-980 Curitiba – PR – E-mail: rcuaspa@ufpr.br

²Instituto Carlos Chagas – Fundação Oswaldo Cruz (Paraná).
Rua Professor Algacyr Munhoz Mader, 3775, bloco C – CEP 81350010 Curitiba – PR

Introdução: A metagenômica permite aproveitar o potencial da grande quantidade de organismos desconhecidos na procura de novas enzimas. As lipases provenientes de microrganismos são as mais utilizadas industrialmente devido à alta eficiência e diversidade na reação de esterificação de ácidos graxos. Com este trabalho pretende-se realizar a prospecção de novas lipases em uma biblioteca metagenômica construída a partir de amostras de solo paranaense. **Métodos:** uma biblioteca metagenômica construída a partir de solo paranaense foi parcialmente sequenciada e analisada para a identificação de novos genes por homologia nas bases de dados. Foi feita uma análise das características da enzima utilizando ferramentas bioinformáticas. **Resultados:** A sequência *lip355* codifica para uma proteína que apresenta 77% de identidade com uma hidrolase de ésteres carboxílicos (E.C. 3.1.1). Lip355 apresenta um domínio pentapeptídeo conservado G-X-S-X-G e triada catalítica, agrupando-se na família de lipases verdadeiras. A sequência *lip355* foi amplificada por PCR, clonada em vetor de superexpressão e a proteína expressa em *E.coli* estirpe Rosetta. Células apresentando superexpressão da proteína não apresentaram halo de hidrólise de tributirina em meio de cultura. Análises mostraram que a proteína super-expressa foi encontrada na forma insolúvel e, apesar das tentativas de solubilização não foi observada atividade de esterase/lipase *in vitro*. A proteína Lip355 pertence a família de lipases que necessita de uma chaperona conhecida como foldase cujo gene usualmente é encontrado no mesmo operon da lipase. O gene para esta foldase não foi identificado nas sequências analisadas. Tentativas de co-expressão com outras foldases disponíveis no laboratório não forneceram atividade. **Conclusões:** Foi identificada uma nova lipase putativa a partir de uma biblioteca metagenômica e análises *in silico* e *in vitro* indicaram a necessidade de uma proteína foldase para a obtenção de uma enzima ativa.

Agências de Fomento: Capes, CNPq, Fundação Araucária.

Palavras-chave: Metagenômica, Sequenciamento de Nova Geração, lipase, foldase, hidrolase, bioinformática.