

Uso da técnica de Rep-PCR na identificação de isolados de actinomicetos

Marcela Proença Borba¹, Ana Elisa Ballarini¹, Sueli Van Der Sand¹

ceh.proenca@gmail.com

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Microbiologia Ambiental, Rua Sarmiento Leite, 500 sala 323. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.

Resumo

Actinomicetos são um grupo de bactérias Gram positivas e filamentosas que representam uma das maiores populações microbianas presentes no solo. Estes microrganismos são de grande interesse industrial, devido a sua capacidade de produzir compostos biologicamente ativos, como antibióticos, anti-helmínticos e anti-tumorais, além de exercerem controle biológico contra fitopatógenos e muitos são promotores de crescimento de plantas. Actinomicetos de diferentes origens foram isolados em estudos anteriores pelo nosso grupo de pesquisa e inicialmente foram identificados com base em suas características morfológicas e bioquímicas. O sequenciamento parcial ou total do 16S rDNA para alguns gêneros deste grupo ainda não se mostrou muito eficiente, pois após o alinhamento das sequências foram geradas múltiplas espécies para um mesmo fragmento. A técnica de Rep-PCR foi desenvolvida baseada na observação de sequências conservadas e repetidas ao longo do genoma bacteriano e utiliza oligonucleotídeos que amplificam diversas regiões do DNA que estão flanqueadas pelas sequências repetidas, formando um padrão de amplificação único nos diferentes organismos. O elemento BOX é um fragmento de DNA de 154 pb localizado repetidamente em posições intergênicas do genoma e pode ser utilizado para a realização deste *fingerprinting* genômico. O objetivo deste trabalho é utilizar a técnica de BOX-PCR para caracterizar os 89 isolados de actinomicetos, agrupando-os em clusters de similaridade por padrão de fragmentos e posteriormente realizar o seqüenciamento do rDNA 16S de isolados de grupos distintos. O primer utilizado nas reações de PCR foi o primer BOX A1R (5'-CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3'), que até o momento possibilitou observação de no mínimo um fragmento distinto em cada uma das 49 amostras das 51 já testadas. Análises do peso molecular dos fragmentos e o respectivo dendrograma com os padrões obtidos ainda serão realizados.

Palavras-chave: *fingerprinting* genômico; Actinomycetes.

Projeto financiado: CAPES.