

Análise de vitalidade em cepas de leveduras cervejeiras por meio da expressão dos genes *PMA1*, *UBI4* e *HSP30*

Marcelo Menoncin, Diego Bonatto

Centro de Biotecnologia da UFRGS

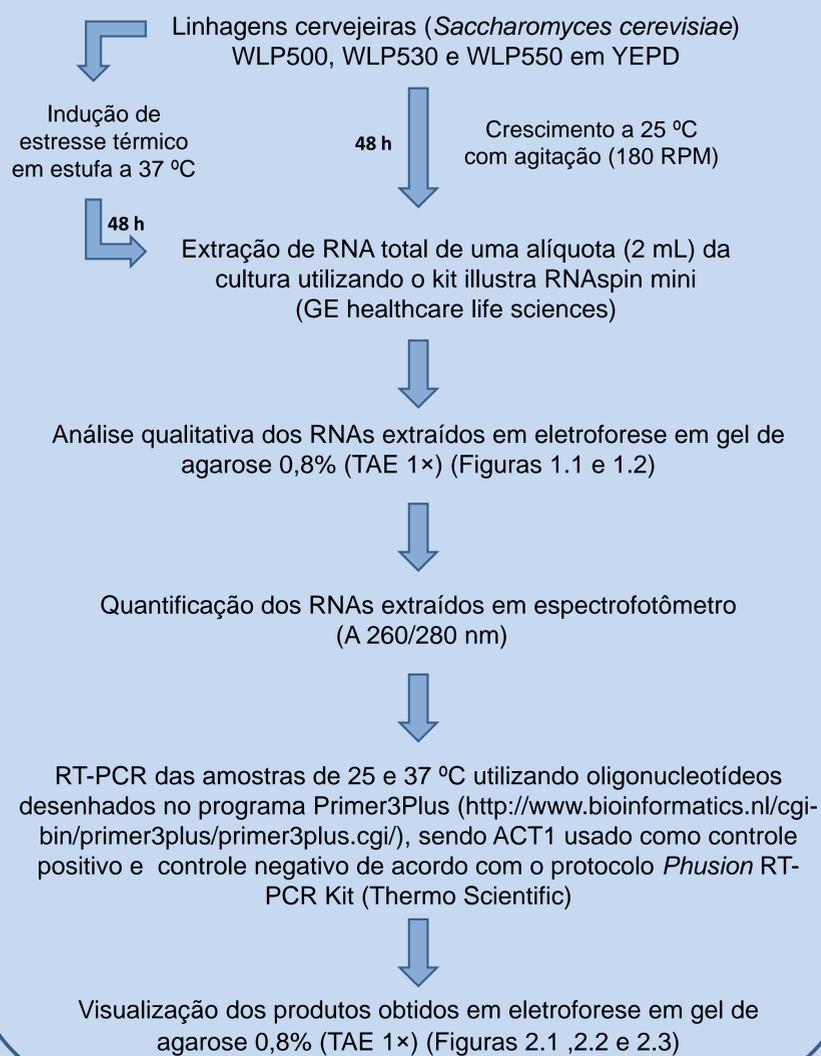
Introdução

O estado metabólico das leveduras influencia diretamente no desempenho fermentativo durante a produção de cervejas, e na qualidade do produto final. As células que apresentam um estado de vitalidade desejável para a fermentação cervejeira, resultam em uma cerveja com boa taxa de atenuação. No entanto, as células que demonstram sinais de estresse devido a fatores externos, como a depleção de nutrientes ou exposição a concentrações elevadas de etanol, poderão não apresentar o mesmo desempenho, resultando em uma baixa vitalidade que resultará em uma cerveja mal atenuada e com metabólitos secundários indesejáveis. Há muitos métodos capazes de analisar a vitalidade de leveduras. Em contrapartida, esses testes podem gerar resultados falso-positivos apresentando dados que não refletem a realidade fisiológica das leveduras. Os genes *PMA1*, *HSP30* e *UBI4* são expressos de maneira antagônica. *PMA1* codifica para uma proteína transmembrana que regula o pH intracelular liberando prótons para o meio extracelular. *UBI4* é essencial para a resposta celular ao estresse, codificando para uma ubiquitina que ao se ligar a proteínas, marca-as para degradação pela via proteolítica[1]. *HSP30* codifica para uma proteína de choque térmico e também é expresso em resposta ao estresse, nas condições de choque térmico, altas concentrações de etanol e limitação de nutrientes, e regula negativamente a expressão gênica de *PMA1*[2].

Objetivo

Verificar se os genes *PMA1*, *HSP30* e *UBI4* podem ser utilizados como biomarcadores para análise de vitalidade em leveduras cervejeiras.

Material e Métodos



Resultados

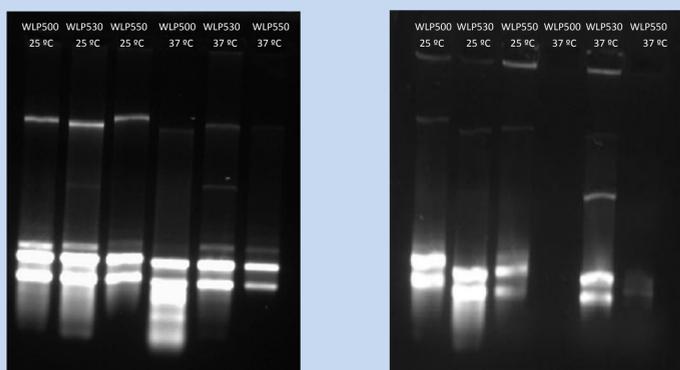


Figura 1.1 - Análise qualitativa em eletroforese em gel de agarose dos RNAs extraídos nas diferentes condições de cultivo.

Figura 1.2 - Análise qualitativa em eletroforese em gel de agarose dos RNAs extraídos nas diferentes condições de cultivo.

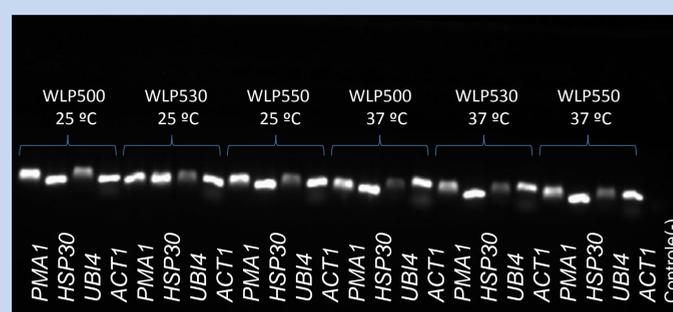


Figura 2.2 - Análise dos produtos obtidos a partir da reação de RT-PCR com RNAs extraídos das linhagens WLP 500, WLP 530 e WLP550 cultivadas nas diferentes condições de crescimento (conforme indicado na imagem).

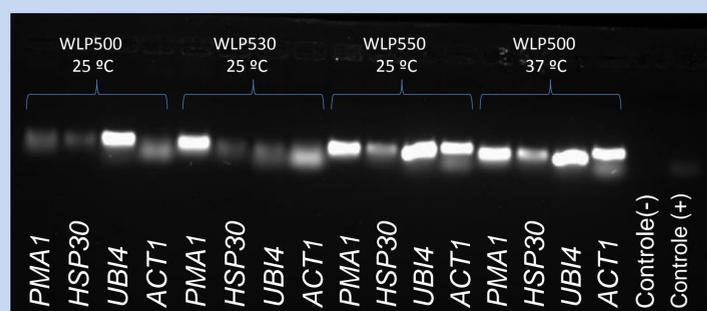


Figura 2.1 - Análise dos produtos obtidos a partir da reação de RT-PCR com RNAs extraídos das linhagens WLP500, WLP530 e WLP550 cultivadas nas diferentes condições de crescimento (conforme indicado na imagem).

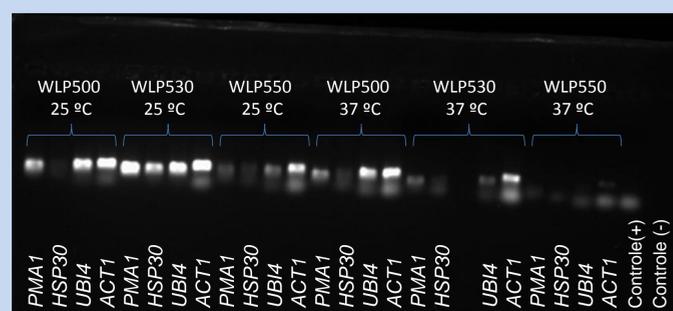


Figura 2.3 - Análise dos produtos obtidos a partir da reação de RT-PCR com RNAs extraídos das linhagens WLP500, WLP530 e WLP550 cultivadas nas diferentes condições de crescimento (conforme indicado na imagem).

Discussão e Perspectiva

- Os oligonucleotídeos utilizados foram capazes de amplificar os cDNAs relativos a *PMA1*, *UBI4* e *HSP30*;
- O próximo passo consiste na utilização da técnica de reação em cadeia da polimerase acoplada à transcrição reversa em tempo real (qRT-PCR) visando a análise de expressão diferencial dos genes anteriormente citados.

Referências Bibliográficas

- [1] Finley D, et al. (1987) The yeast polyubiquitin gene is essential for resistance to high temperatures, starvation, and other stresses. *Cell* 48(6):1035-46
- [2] Panaretou B and Piper PW (1992) The plasma membrane of yeast acquires a novel heat-shock protein (hsp30) and displays a decline in proton-pumping ATPase levels in response to both heat shock and the entry to stationary phase. *Eur J Biochem* 206(3):635-40