

Autora: Francielly Dias Pereira;
Orientador: Prof. Dr. Adriano Brandelli.

INTRODUÇÃO

As bactérias probióticas são utilizadas como suplemento alimentar microbiano vivo, pois afetam benéficamente o organismo pela promoção da homeostase da microbiota intestinal humana e são indicados para prevenir e tratar diversas patologias (Watson et al, 2013). Já os prébióticos são componentes alimentares não digeríveis que também promovem mudanças na composição da microbiota intestinal beneficiando o hospedeiro (Roberfroid, 2007). Alguns oligossacarídeos com função prebiótica demonstraram aumento no número de microrganismos probióticos e redução no número de patógenos no intestino (Millani et al, 2009). Os *Enterococcus* spp. são bactérias Gram-positivas, encontradas no trato gastrointestinal de humanos e animais e são comumente utilizados como probióticos (Roberto, 2016).

MATERIAL E MÉTODOS

ISOLADO

Enterococcus durans LAB 18S → queijo artesanal

GENÔMICA

Sequenciamento:
Illumina® MiSeq System

Montagem:
Geneious 10.1.3

Genoma referência:
E. durans
KLDS6.0933

Anotação: NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline e RAST.

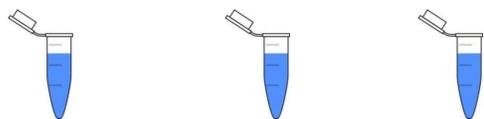
Metabólitos secundário:
antiSMASH

ANÁLISE DO PERFIL DE PROTEÍNAS

CURVA DE CRESCIMENTO

- Probiótico → *Enterococcus durans* LAB18S
- Prébióticos → FOS; GOS; Glicose(controle)

Meio sintético + Substrato prebiótico (1 %)



GLICOSE

FOS

GOS

Anaerobiose - 37°C

Análise da curva de crescimento (30 h)

3x

- O.D.
- pH

EXTRAÇÃO DE PROTEÍNA

Lavagens e centrifugação → Maceração com nitrogênio líquido → Quantificação Bradford

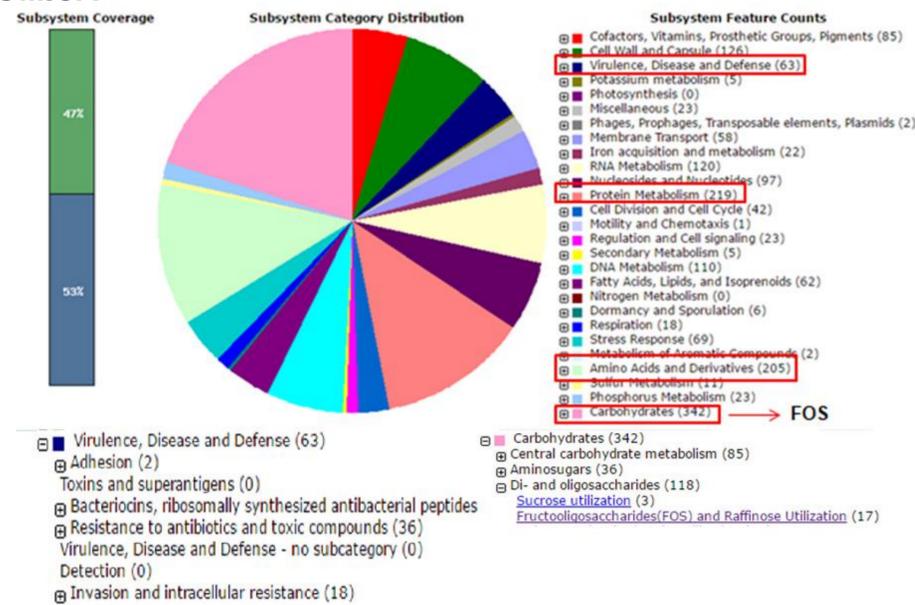
SDS-PAGE

Nitrato de prata



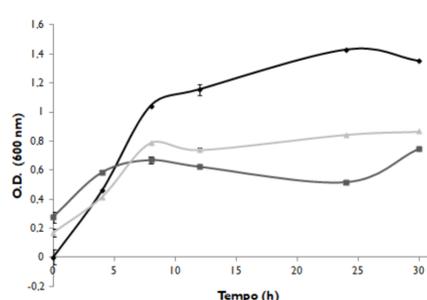
RESULTADOS

GENÔMICA



ANÁLISE DO PERFIL DE PROTEÍNAS

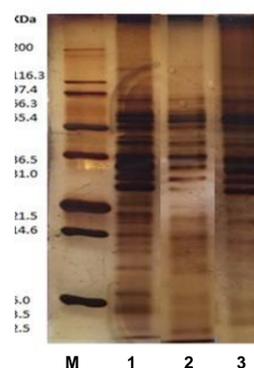
Curva de Crescimento



Total de extração de proteína

	mg/L	mg/L	mg/L
FOS 1	451,3	GOS 1	627,1
GLU 1	698,8		
FOS 2	581,3	GOS 2	742,1
GLU 2	959,6		
FOS 3	456,3	GOS 3	814,6
GLU 3	958,8		

SDS - PAGE



Linha M : padrão de peso molecular.
Linha 1: total de proteínas de *E. durans* LAB18S com glicose como controle;
Linha 2: total de proteínas de *E. durans* LAB18S com FOS;
Linha 3: total de proteínas de *E. durans* LAB18S com GOS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Rossi, M., Corradini, C., Amaretti, A., Nicoloni, M., et al. Fermentation of Fructooligosaccharides and Insulin by Bifidobacteria: a comparative Study of Pure and Fecal Cultures. Applied and Environmental Microbiology, p. 6150-6158, 2005.
- Zhao, J., Cheung, P.C.K. Comparative proteome analysis of Bifidobacterium longum sbsp. infantis grown on B-glucans from different sources and model for their utilization. Food and Nutritional Sciences Program, School of Life Sciences, The Chinese University of Hong, p. 4360-4370, 2013.
- Watson, D., Motherway, M.C.M., Schoterman, M.H.C., et al. Selective carbohydrate utilization by lactobacilli and bifidobacteria. University College Cork Journal of Applied Microbiology, p. 1132-1146, 2012.
- Roberto, S.B., Virulência e resistência antimicrobiana de Enterococcus sp. isolados de amostras de água. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, p. 1-91, 2016.
- Roberfroid, M., Prebiotics: The Concept Revisited. Universite' Catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve B-1348, Belgium, p.830-837, 2007.

CONCLUSÃO

O isolado de *Enterococcus durans* LAB 18S em meio de GLICOSE apresentou OD>1, sendo natural devido ao fato desse carboidrato ser fundamental e preferência desses micro-organismos. Apresentou genes de importância para um bom probiótico, além de apresentar diferenças no gel quanto ao perfil proteico nos diferentes substratos. Futuramente, a expressão de diferentes proteínas nesses meios será avaliada com a espectrometria de massa.