



**FAPEAM**

Fundação de Amparo à Pesquisa  
do Estado do Amazonas

R  
501  
54710  
2007

**Catálogo  
PIPT e TEMÁTICO**

# Análises Proteômicas de *Chromobacterium violaceum* – Peptídeos e proteínas com potencial biotecnológico.

Instituição: Rede Proteômica do Amazonas (EMBRAPA-AM, FIOCRUZ-AM, FMTAM, INPA, UFAM)

## OBJETIVOS:

Obter os perfis 2-D e caracterizar as variações qualitativas/quantitativas dos peptídeos e proteínas citoplasmáticas em condições de estresse fisiológico induzido in vitro utilizando meios de cultura com alta e baixa qualidade nutricional;

Isolamento preparativo de peptídeos e proteínas extracelulares e avaliação das suas potencialidades biotecnológicas como antibióticos contra *Leishmania* spp. e fungos fitopatogênicos.

## METODOLOGIA:

- Crescimento de *Chromobacterium violaceum* em meio M9 e LB;
- Obtenção do extrato; fracionamento do extrato protéico bacteriano por HPLC, solventes orgânicos e acetato de amônio pH 4.;
- Obtenção de géis bidimensionais (2D-SDS-PAGE);

Testes biológicos antimicrobianos (anti-leishmania, fungos de interesse médico e anti-fitopatogênicos) do extrato total e frações proteicas *C. violaceum*.

## CONCLUSÕES:

Maior número de proteínas na faixa de pH 4 – 7 em amostra de proteínas obtidas por extração ácida.

Crescimento de *C. violaceum* em meios nutritivos diferentes, mas com produção de maior massa celular em meio LB.

Proteínas de *C. violaceum* apresentaram atividade antimicrobiana.

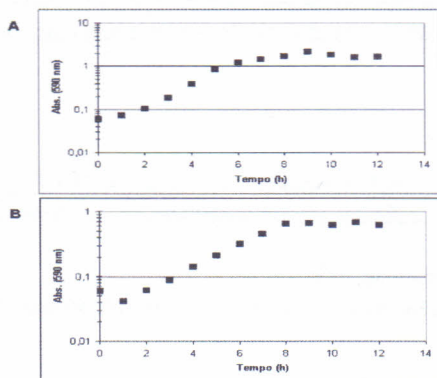


Figura 1: Curva de crescimento em escala semi-log da *Chromobacterium violaceum*, cepa ATCC. O tempo de geração de 45 min para células crescidas em meio LB (A) e 2 horas para células em meio M9 (B).

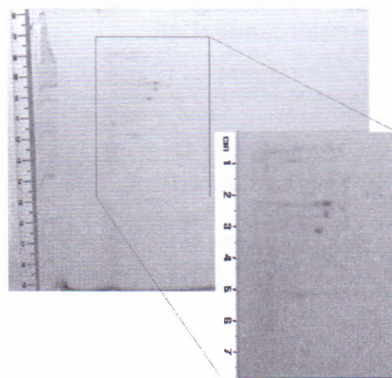


Figura 2 - Gel 2D -SDS-PAGE, faixa de pH 3 -10, de sobreabundante (SOBRE) do meio de cultura de *C. violaceum* crescida em meio rico - LB.

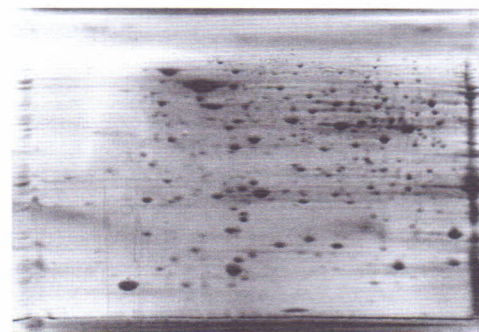


Figura 3. Perfil eletroforético (2-D), faixa de pH 4 -7, das proteínas totais citoplasmáticas de *C. violaceum* após extração com tampão pH ácido (pH 4). Foi utilizado 100 µg de proteínas e coradas com coomassie brilliant blue.

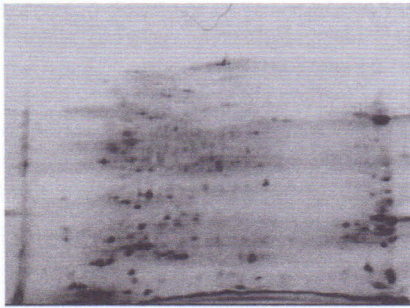


Figura 4: Perfil eletroferético (2-D), faixa de pH 3 -10, das proteínas extracelulares de *C. violaceum* da fração E solúvel em água. Foi utilizado 30 µg de proteínas e coradas com nitrato de prata.

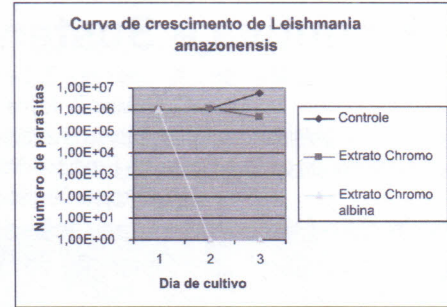


Figura 05: Atividade leishmanicida dos extratos de *Chromobacterium violaceum* (cepa ATCC e albina) quando formas promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis* em fase estacionária, foram incubadas com 40 µg/0,2 mL e acompanhadas por 48 horas.

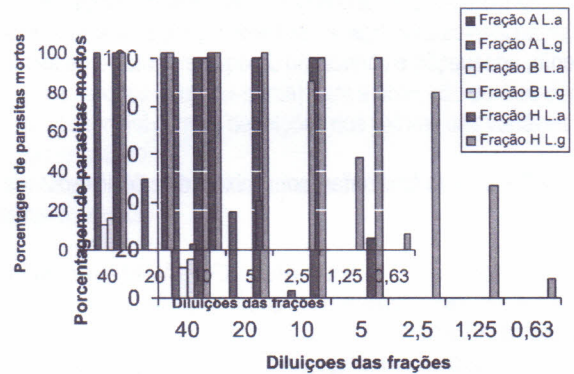


Figura 6: Atividade leishmanicida (*Leishmania amazonensis* e *Leishmania guyanensis*) das frações A, B e H de *Chromobacterium violaceum* cepa (ATCC 12472).

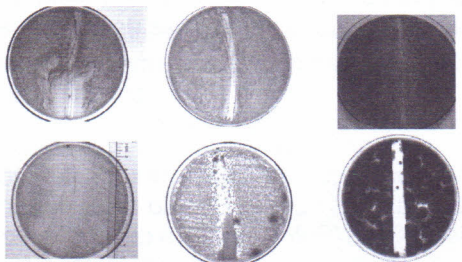


Figura 07: Inibição do crescimento de *Saccharomyces cerevisiae*, cepas S288-C e D273-10B, e suspeita de inibição em *Aspergillus niger* pelas frações do extrato proteico de *C. violaceum*

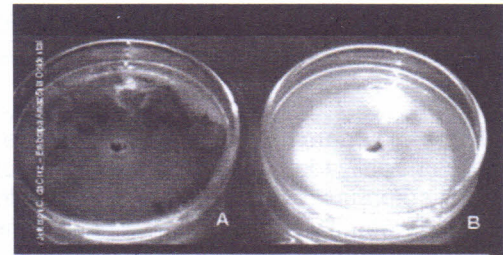


Figura 1: micélio de *C. guaranicoila* em meio de cultura M9 em interação com *C. violaceum* (A) e na ausência de *C. violaceum* (B). Fotografia tomada no 9º dia de interação.