

Desenvolvimento de protocolo para imagem química por espectrometria de massas de metabólitos-microrganismos

Tallyta Santos Teixeira¹, Jorge Candido Rodrigues Neto², Pedro Alves Martins³, Elias Alves da Silva⁴, Patrícia Pinto Kalil Gonçalves Costa⁵, Thaís Fabiana Chan Salum⁶, Félix Gonçalves de Siqueira⁷, Patrícia Verardi Abdelnur⁸

Resumo

A complexa interação dos microrganismos entre si e com o ambiente é mediada por diversos metabólitos, que têm muitas aplicações industriais. Nesse contexto, a imagem química por espectrometria de massas pode auxiliar estudos de prospecção de novos compostos por permitir informações complementares através da determinação espacial dos metabólitos. Dentre as técnicas utilizadas, tem-se a MALDI-IMS (*Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization – Imaging Mass Spectrometry*), que exige desenvolvimento de métodos adequados para o preparo e análise da amostra. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um protocolo para MALDI-IMS de metabólitos em microrganismos. Foram testadas formas de inoculação (contato e suspensão), cultivo do microrganismo (direto na lâmina para MALDI-IMS e por transferência), tipo de matriz (DHB e HCCA) e forma de aplicação da matriz escolhida (por sublimação, seguida ou não de recristalização com ácido acético 5%, e por micropipeta). A bactéria CNPAE 99 (579) da coleção “Microrganismos e Microalgas Aplicados à Agroenergia e Biorrefinarias” (CMMAABio) foi cultivada em placas de Petri por 24 h a 28 °C. Em seguida, o material foi desidratado por 2 h, submetido à aplicação de matriz e analisado por MALDI-IMS. Percebeu-se que a inoculação realizada por suspensão permitiu um crescimento mais uniforme e reprodutível da colônia se comparado com o contato direto. A forma de cultivo diretamente na lâmina para MALDI-IMS foi mais eficaz do que a transferência da colônia para esta, devido à facilidade do manuseio do material biológico. Ao comparar as matrizes, observou-se que o DHB aplicado por sublimação permitiu uma rápida (5 min) e uniforme deposição da matriz. Porém, nenhuma imagem química de metabólitos foi obtida nessa condição. Já a utilização de HCCA acarretou em uma lenta (20 min) e uniforme deposição de matriz sobre as amostras. Neste caso, seis íons (m/z 520,1; 524,4; 563,4; 568,6; 591,9 e 625,5) tiveram sua localização química determinada. Destes, o íon m/z 568,6 refere-se à matriz HCCA e os demais íons serão investigados por UHPLC-MS/MS. A matriz HCCA apresentou melhores resultados e por isso foi testada quanto à forma de aplicação, avaliando a distribuição espacial do íon m/z 568,6 em cada método. Dentre os métodos avaliados, a aplicação do HCCA por sublimação apresentou uma distribuição uniforme em toda amostra, enquanto os demais métodos apresentaram localização pontual. Uma otimização de parâmetros instrumentais se faz necessária para esse protocolo, porém o MALDI-IMS se mostra promissor para fins de prospecção de novos metabólitos de microrganismos.

Auxílio Financeiro: Capes.

Palavras-chave: MALDI-IMS. metabolômica. microrganismos.

¹ Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia, doutoranda em Química, Universidade Federal de Goiás, tallyta.santos@colaborador.embrapa.br.

² Químico, doutorando em Química, Universidade Federal de Goiás, jorge.rodrigues@colaborador.embrapa.br.

³ Biólogo, doutorando em Biologia Microbiana, Universidade de Brasília, pedro.alves@colaborador.embrapa.br.

⁴ Biólogo, doutorando em Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras, elias.silva@colaborador.embrapa.br.

⁵ Química, mestre em Química Orgânica, analista da Embrapa Agroenergia, patricia.costa@embrapa.br.

⁶ Farmacêutica, doutora em Bioquímica, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, thais.salum@embrapa.br.

⁷ Biólogo, doutor em Ciências Biológicas (Biologia Molecular), pesquisador da Embrapa Agroenergia, felix.siqueira@embrapa.br.

⁸ Química, doutora em Química Orgânica, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, patricia.abdelnur@embrapa.br.