

Produção de L-asparaginase por *Aspergillus sp.* em cultivo submerso



Larissa L. da Silva, Giovana Rech e Marli Camassola

Instituto de Biotecnologia – Laboratório de Enzimas e Biomassas

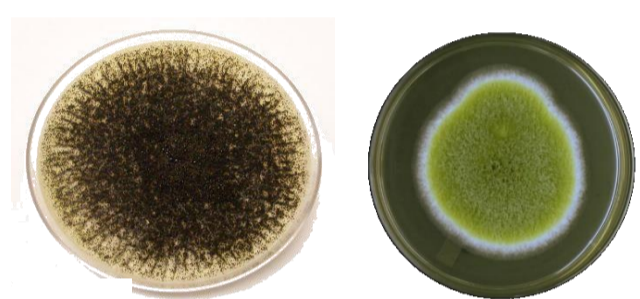
Projeto: Agroenergia Email: llsilva11@ucs.br

Introdução

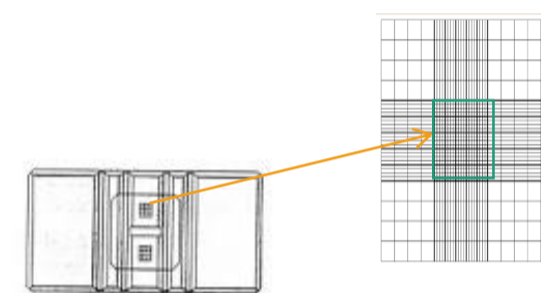
Nas últimas décadas a utilização de enzimas como agentes terapêuticos tem despertado grande interesse devido aos avanços alcançados na área de bioprocessos. Entre estas enzimas está a L-asparaginase que catalisa a hidrólise de L-asparagina em ácido aspártico e amônia. L-asparagina é um aminoácido essencial para o crescimento de células tumorais, enquanto que em células normais, o aminoácido pode ser sintetizado em quantidades suficientes para as necessidades metabólicas da célula com a sua própria enzima L-asparagina sintetase. A L-asparaginase é utilizada em primeira linha nos esquemas antineoplásicos para o tratamento e remissão da leucemia linfóide aguda (LLA), sendo que 80% dos pacientes acometidos pela condição são crianças. No Brasil, para o ano de 2016 há a estimativa de 10070 novos casos de leucemias. Em 2013, 6316 pessoas morreram devido a leucemias (INCA, 2016). Apesar da eficácia clínica da L-asparaginase, frequentemente são observados problemas relacionados a utilização, como por exemplo: hipersensibilidade, desordens de coagulação e resistência. Em vista da importância da obtenção de novas fontes de L-asparaginase, o objetivo do trabalho foi avaliar a produção desta enzima empregando os fungos filamentosos *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus* em cultivo submerso, empregando meio formulado com asparagina.

Materiais e Métodos

Preparação do Inóculo



Crescimento de *Aspergillus niger* ATCC 1004 e *Aspergillus flavus* ATCC 16883 em meio de conservação e propagação



Contagem de esporos em Câmara de Neubauer e inoculação na concentração 10^5 .mL⁻¹



Frascos mantidos em agitação recíproca a 180 rpm, 28°C por 7 dias em meio Czapek Dox, pH 6,2



Centrifugação a 3000g durante 20 minutos

Determinação da Atividade Enzimática

Caldo Enzimático

1,7mL L-asparagina 0,01M
0,2mL tampão 0,05 (Tris-HCl pH 8,6)
0,1mL caldo enzimático

37°C
10 min.

0,5mL Ácido Tricloroacético
1,5M

0,5mL do volume
6,5mL água destilada
1mL Reagente de Nessler

Leitura
espectrofotométrica
em microplaca 480nm

Resultados

Os resultados das atividades enzimáticas estão apresentados nas **Figuras 1 e 2**. Verificou-se títulos enzimáticos crescentes até 96 h de cultivo para *A. flavus*, atingindo valores aproximados de 0,2 UI/mL. Já para *A. niger*, a maior atividade 0,25 UI/mL foi verificada em 48 h.

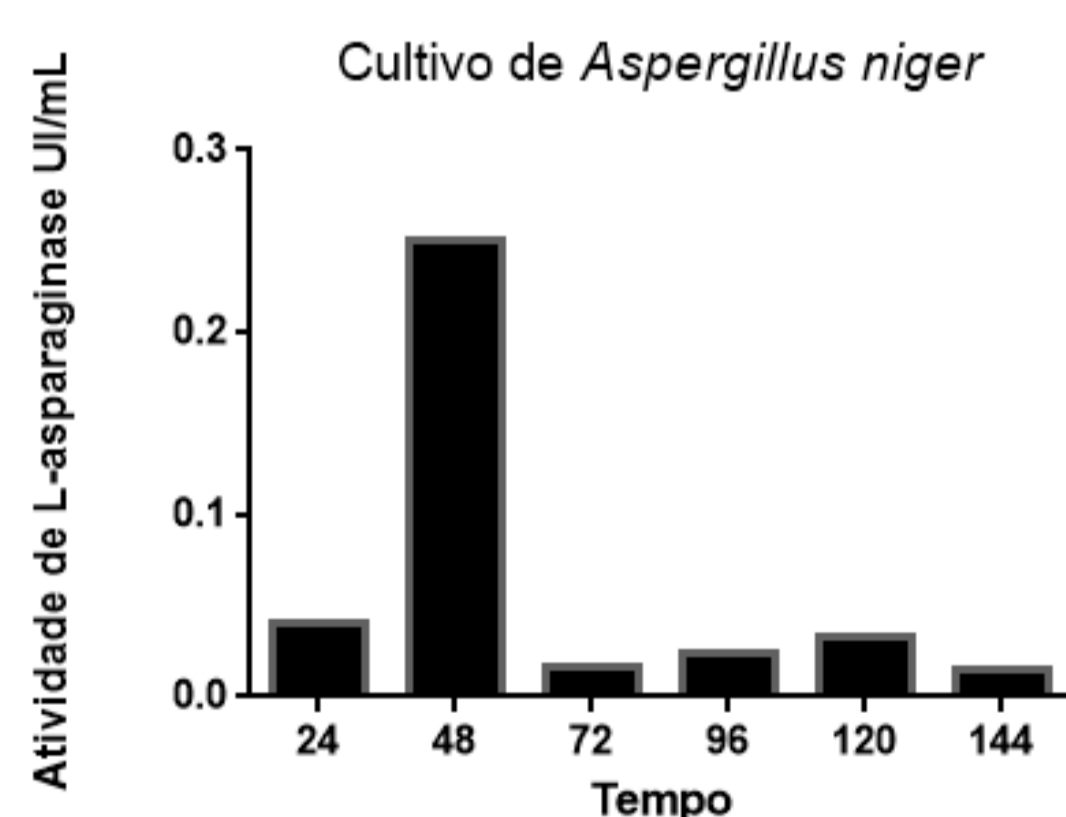


Figura 1 - Atividade de L-asparaginase em cultivo de *Aspergillus niger*

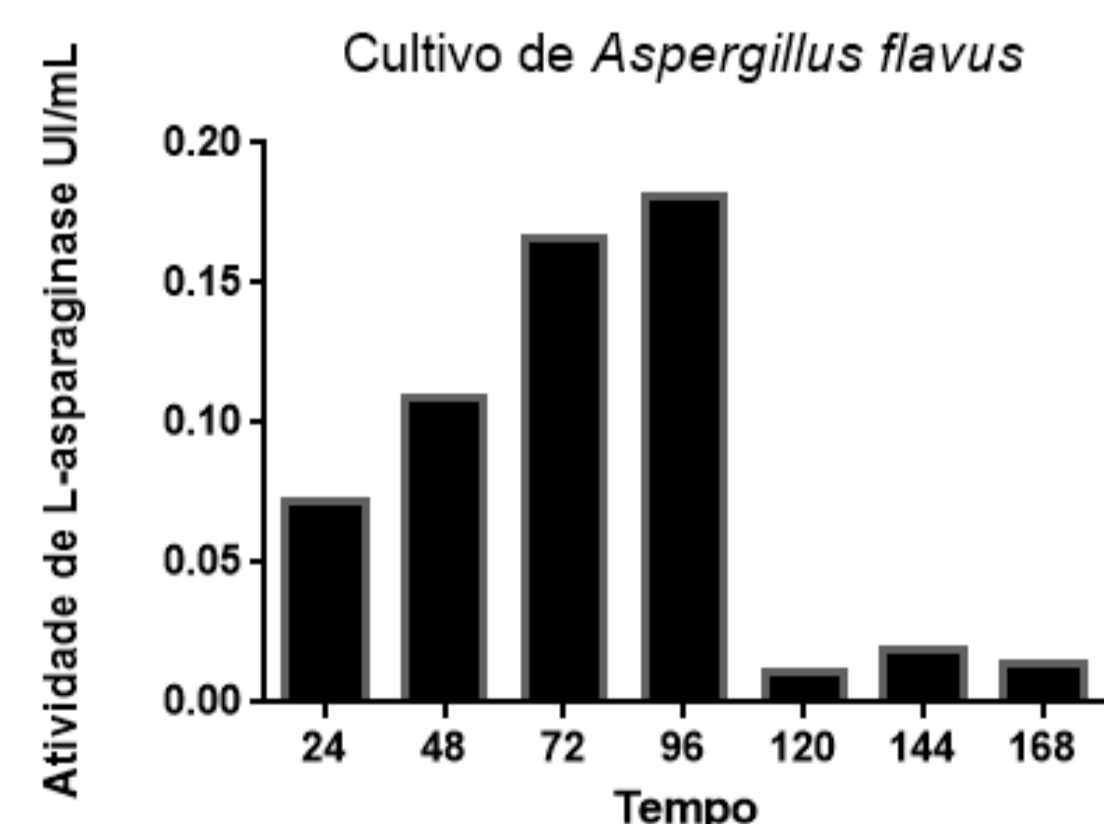


Figura 2 - Atividade de L-asparaginase em cultivo de *Aspergillus flavus*

Conclusão

Embora os dados sejam preliminares, as otimizações das condições de cultivo, como meio de produção, temperatura e pH, precisam ser realizadas. Os resultados indicam a possibilidade de produção desta enzima de interesse biotecnológico por ambas as espécies de *Aspergillus* avaliadas.

Referências

- Inca.gov.br: Estimativa 2016: Incidência de Câncer no Brasil. **INCA**, Instituto Nacional do Câncer.
- RANI, Soniyamby Ambi; SUNDARAM, Lalitha; SUNDARAM, Lalitha. N VITRO ANTIOXIDANT AND ANTICANCER ACTIVITY OF L - ASPARAGINASE FROM ASPERGILLUS FLAVUS (KUFS20). *Asian Journal Of Pharmaceutical And Clinical Research*. Tamil Nadu, Índia, p. 174-177. nov. 2011.
- SARQUIS, Maria Inez de Moura et al. Production of L-asparaginase by Filamentous Fungi. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, p.489-492, ago. 2004.
- ZIA, Muhammad Anjum et al. Production of L-Asparaginase from Aspergillus Niger using Agro Wastes By-Products in Submerged Fermentation Process. *Jurnal Teknologi*. Faisalabad, Pakistan, p. 47-51. jan. 2013.

Agradecimentos

