

(BIOTECNOLOGIA E INDÚSTRIA) ENZIMAS PARA DESCONSTRUÇÃO DA QUITINA CODIFICADAS NO GENOMA DE CHROMOBACTERIUM VIOACEUM: CARACTERIZAÇÃO IN SILICO E VALIDAÇÃO EXPERIMENTAL DO SEU POTENCIAL QUITINOCLÁSTICO

Encontro Nacional dos Estudantes de Biotecnologia, 8^a edição, de 26/07/2021 a 30/07/2021
ISBN dos Anais: 978-65-89908-64-7

LIMA; Gabriela Mesquita Lopes de¹, GRANGEIRO; Thalles Barbosa²

RESUMO

Enzimas capazes de degradar quitina, um polissacarídeo recalcitrante abundante na natureza, estão presentes em muitos microrganismos e têm potencial para serem utilizadas no desenvolvimento de produtos inovadores para a agricultura, medicina e indústria. O objetivo deste trabalho, portanto, foi transformar células de *Escherichia coli* BL21(DE3), com plasmídeos codificantes para certas proteínas de *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472, e verificar se essas são produzidas tanto em escala reduzida, quanto em escala maior e se possuem atividade enzimática na degradação da quitina. Foram realizadas análises *in silico*, a fim de avaliar a probabilidade de diferentes enzimas quitinoclásticas serem produzidas de forma solúvel, quando expressas em *E. coli*. Após essas análises, algumas proteínas foram escolhidas, representando membros das famílias AA10 (3 proteínas), GH3 (2 proteínas) e GH23 (3 proteínas). Plasmídeos contendo as sequências de DNA que codificam essas proteínas, foram, então, introduzidos em *E. coli* BL21(DE3) e a expressão das moléculas recombinantes foi realizada, de forma piloto, em diferentes temperaturas (20 °C, 25° C, 30 °C e 35 °C). A análise por eletroforese (SDS-PAGE) das frações intracelulares de células induzidas, revelou, em todas as amostras, a presença de bandas com massas moleculares aparentes que correspondiam aos valores esperados para as massas das proteínas. foram realizados, para todas as proteínas estudadas, testes de atividades quitinoclástica e quitosanásica, seguindo protocolos bem estabelecidos anteriormente. Apenas duas proteínas, ambas pertencentes à família GH3 (CV0259 e CV2065), obtiveram resultados para atividade quitinoclástica e nenhuma obteve resultado para atividade quitosanásica. A proteína com melhor resultado na indução piloto (CV2065) foi produzida em maior quantidade e purificada por cromatografia por afinidade a íons metálicos, utilizando uma resina de cobalto. Assim, a produção, purificação e análise de proteínas quitinoclásticas foram bem-sucedidas, o que abre precedentes para a produção e purificação, em larga escala, de proteínas recombinantes com diversos potenciais econômicos e industriais.

PALAVRAS-CHAVE: Chromobacterium violaceum, Escherichia coli, quitina, quitinases, proteínas recombinantes

¹ Universidade Federal do Ceará, gabrielamesquita35@alu.ufc.br
² Universidade Federal do Ceará , tbgrangeiro@gmail.com