

Produção de β glB – BCBM, uma proteína quimérica com domínios de “beta-glicosidase” e “ligação de celulose”

Mateus Galdino Cardoso (IC); Sandro Roberto Marana (PQ)
Instituto de Química – Universidade de São Paulo
mateus.galdino.cardoso@usp.br

Introdução

- Celobiose é um produto inibidor da degradação catalítica de celuloses por celulasas, que agem na superfície da celulose.
- Beta-glicosidasas naturais podem diminuir a presença de celobioses no sistema reacional.
- Beta-glicosidasas quiméricas com um domínio de ligação de celulose podem agir diretamente na superfície das fibras da celulose, acelerando ainda mais o processo.
- Deste modo, indústrias baseadas na degradação de celulose (etanol, por exemplo) podem ter interesse nestas reações.

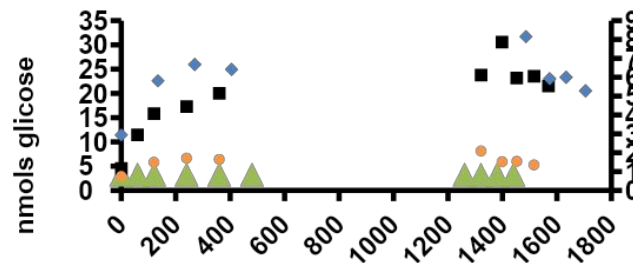
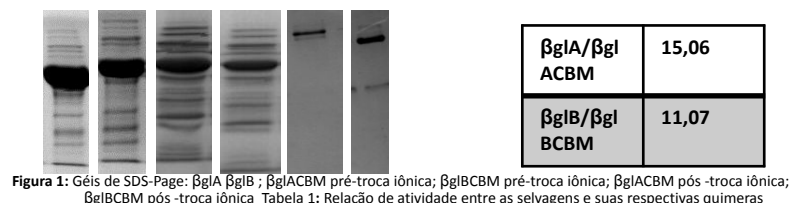
Objetivos

- Expressar e purificar as enzimas quiméricas β glACBM e β glBCBM.
- Verificar suas eficiências catalíticas frente às selvagens respectivas

Materiais e métodos

- A expressão foi realizada com vetor pLate51 em bactérias BL21DE3 (*E.coli*)
- A purificação foi realizada em resina Ni-NTA agarose, com etapa adicional de cromatografia de troca aniônica para as quiméricas
- Os testes de atividade foram realizados utilizando Avicel como substrato, celobiohidrolase (CBHI) e as enzimas produzidas. Brancos de CBHI e enzima produzida também foram feitos.
- Utilizou-se DNS para medição de poder redutor e TGO para medição de glicose através de leituras de absorbância.

Resultados experimentais



Conclusões

- A expressão das quiméricas foi bem sucedida, algo que não se pode dizer de suas purificações.
- Mais estudos são necessários para uma comparação real entre as enzimas selvagens e quiméricas.
- β glA apresentou maior atividade que β glB .