

PURIFICAÇÃO DE ENZIMA XILANASE PROVENIENTE DE LINHAGEM RECOMBINANTE DE *ASPERGILLUS NIDULANS* PARA PRODUÇÃO DE XILOOLIGOSSACARÍDEOS



Raquel Pischke Garske, Marco Antônio Záchia Ayub
Universidade Federal do Rio Grande do Sul



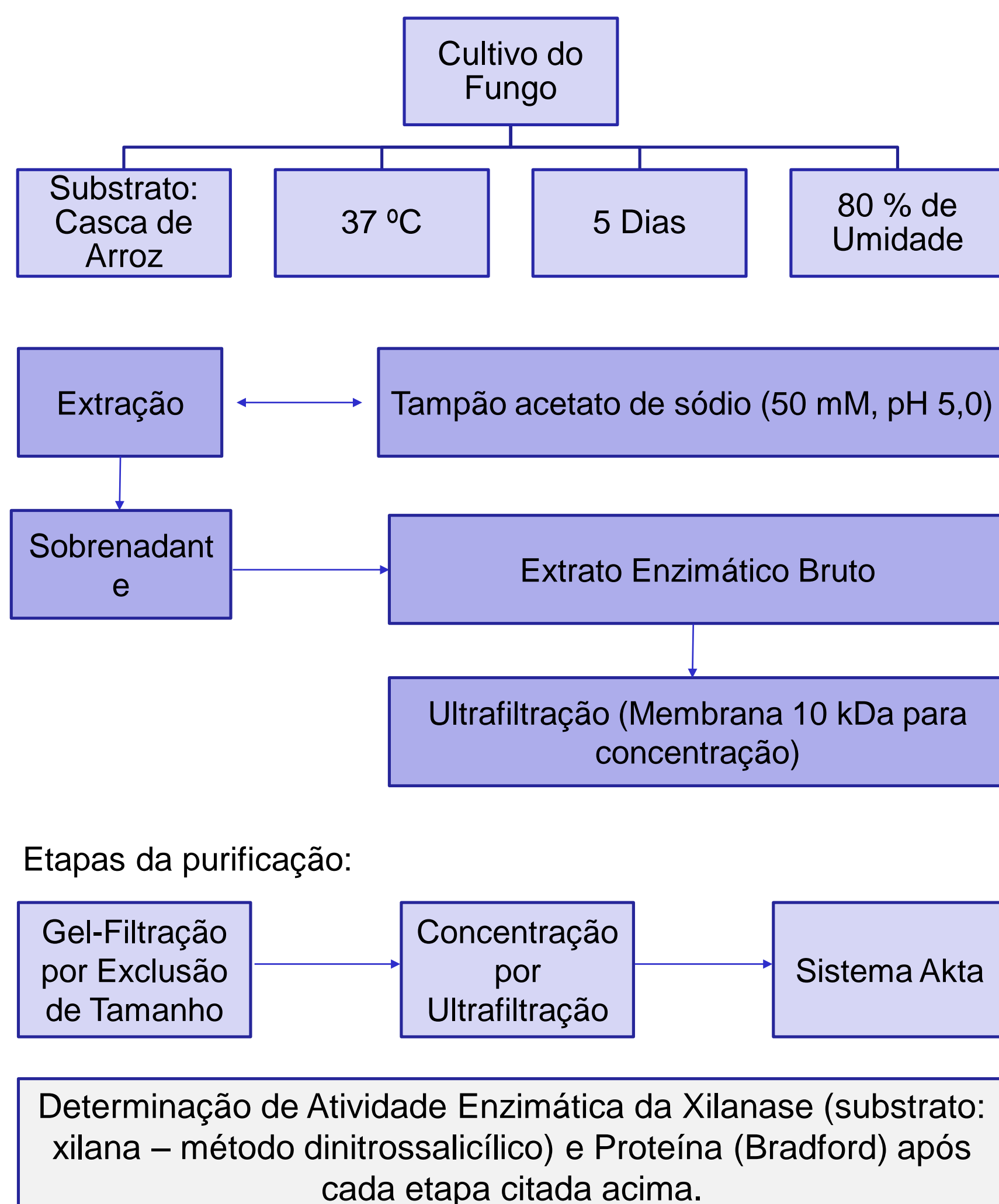
Introdução

Enzimas são biocatalisadores que podem ser obtidos de diversas fontes, dentre elas, as microbiológicas. As xilanases são produzidas por uma grande variedade de microrganismos, sendo observada uma melhor atividade xilanolítica em fungos. São amplamente utilizadas na indústria, e em algumas aplicações é desejado o uso da enzima purificada. O processo de purificação é utilizado para remoção de impurezas e envolve seu isolamento a partir da fonte, baseado em suas diferentes características físicas.

Objetivo

O objetivo deste trabalho foi purificar enzima xilanase proveniente de uma linhagem de fungo recombinante, *Aspergillus nidulans* XynC, com gene de super-expressão de xilanase inserido no genoma, para aplicação na produção de xilooligosacarídeos.

Material e Métodos



A identificação do peso molecular das proteínas foi analisada em gel de poliácridamida 12 %, corado com Solução Azul de Comassie (Laemmli, 1970).

Resultados e Discussão

Os resultados de atividade enzimática para o extrato bruto e concentrado foram de 34,2 U/mL e 37,8 U/mL, respectivamente, comprovando a concentração deste. Para proteínas, foi obtido um valor de 0,1 mg/mL para o extrato bruto e 0,8 mg/mL para o concentrado. A Figura 1 mostra os resultados de atividade enzimática e quantidade de proteína após a gel-filtração, obtendo duas frações proteicas com valores de 0,07 mg/mL e 0,01 mg/mL, além de dois picos de atividade enzimática (28,8 U/mL e 4,1 U/mL, respectivamente) verificando que a purificação nesse sistema foi eficiente.

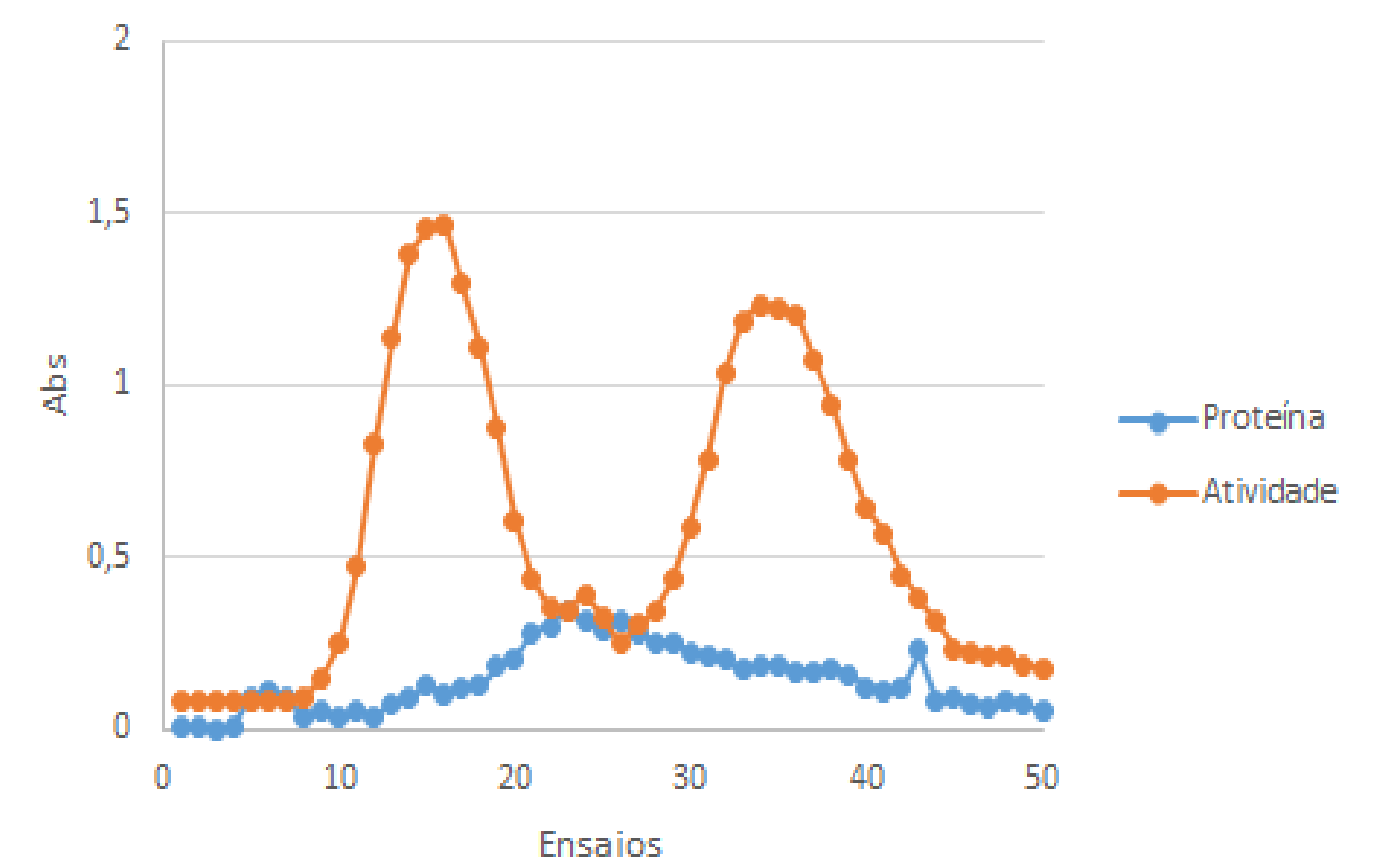


Figura 1: Purificação após gel-filtração, com resultados de proteína e atividade enzimática.

Após a purificação com sistema Akta, observou-se a presença de dois picos, sendo o primeiro referente ao gene inserido no fungo e o segundo referente à proteína original do *A. nidulans*. Os valores de atividade enzimática foram de 1,053 U/mL e 0,726 U/mL, respectivamente. A quantidade de proteína para ambos picos foram muito baixas, 0,03 mg/mL (Pico 1) e 0,02 mg/mL (Pico 2). Devido a isso, foi possível comprovar o peso molecular apenas da proteína do gene inserido (Figura 2), obtendo peso molecular de 25 KDa, o que foi de acordo com a literatura.

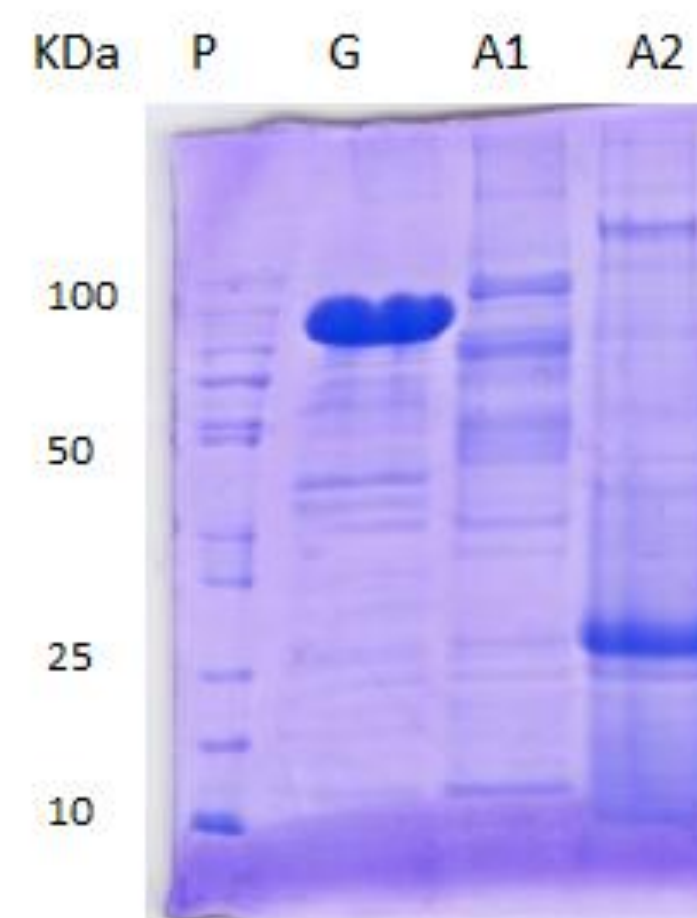


Figura 2: Gel SDS com o peso molecular das proteínas (Coluna KDa), onde: P: Ladder; G: Amostra da Gel-Filtração; A1: Amostra do Pico 1 do Akta; A2: Amostra do Pico 2 do Akta.

Agradecimentos

