

SALÃO DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA
XXIX SIC

UFRGS
PROPESQ



múltipla 
UNIVERSIDADE
inovadora  inspiradora

Evento	Salão UFRGS 2017: SIC - XXIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2017
Local	Campus do Vale
Título	Purificação de enzima xilanase proveniente de linhagem recombinante de <i>Aspergillus nidulans</i> para produção de xilooligossacarídeos
Autor	RAQUEL PISCHKE GARSKE
Orientador	MARCO ANTONIO ZACHIA AYUB

Purificação de enzima xilanase proveniente de linhagem recombinante de *Aspergillus nidulans* para produção de xilooligossacarídeos

Raquel Pischke Garske, Marco Antonio Zachia Ayub
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

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. 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 xilooligossacarídeos. O cultivo do fungo foi realizado em estado sólido, com casca de arroz como fonte de substrato, e incubado à temperatura de 37 °C por 5 dias. A casca de arroz estava com 80 % de umidade, e foi umidificado com meio basal conforme Segato *et al* (2012). Após a extração enzimática com tampão acetato de sódio 50 mM e pH 5,0, os sobrenadantes foram considerados como o extrato enzimático bruto, e esse foi submetido a ultrafiltração por membrana de 10 kDa para concentração. O primeiro passo da purificação foi a cromatografia de gel-filtração por exclusão de tamanho, as frações purificadas foram concentradas por ultrafiltração novamente. Após, foi utilizado o sistema Akta, a amostra da gel-filtração foi eluída em uma coluna de permuta de ânions (DEAE FF-GE Healthcare 1mL). A atividade enzimática e proteína foram determinadas após cada etapa de purificação, a atividade de xilanase utilizou xilana (Sigma-Aldrich, USA) como substrato e os açúcares redutores liberados pela hidrólise desses substratos foram quantificados pelo método dinitrossalicílico (Miller, 1959), e a quantidade de proteína por Bradford (1976). A identificação do peso molecular das proteínas foi analisada em gel de poliacrilamida 12 %, corado com Solução Azul de Coomassie (Laemmli, 1970). 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. Após a gel-filtração, obteve-se dois picos de atividade enzimática, com valores de 28,8 U/mL e 4,1 U/mL, e valores de proteína de 0,07 mg/mL e 0,01 mg/mL, isso verifica-se que a purificação nesta etapa foi eficiente, obtendo duas frações proteicas. Com o sistema Akta, pode-se comprovar que o primeiro pico é referente a proteína do gene inserido e teve atividade enzimática de 1,053 U/mL e o segundo referente a proteína já proveniente do fungo *Aspergillus nidulans* de 0,726 U/mL. A quantidade de proteína para ambos os picos foram muito baixas, 0,03 mg/mL e 0,02 mg/mL, respectivamente. Devido a isso, foi possível comprovar o peso molecular apenas da proteína do gene inserido, obtendo peso molecular de 25 KDa, o que foi de acordo com a literatura. O extrato enzimático produzido pelo fungo recombinante *A. nidulans* junto ao substrato casca de arroz, foi possível produzir enzima xilanase e esta foi purificada, apresentando dois picos de atividade enzimática. Estas proteínas tem aplicabilidade na produção de xilooligossacarídeos após a purificação em grande quantidade.