



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2018: SIC - XXX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2018
<b>Local</b>	Campus do Vale - UFRGS
<b>Título</b>	Clonagem e expressão de transglutaminase microbiana recombinante
<b>Autor</b>	WILLIAM TADEU SANTOS DA SILVA
<b>Orientador</b>	MARCO ANTONIO ZACHIA AYUB

Título do projeto: Clonagem e expressão de transglutaminase microbiana recombinante  
Aluno: William Tadeu Santos da Silva  
Orientador: Marco Antônio Záchia Ayub

A transglutaminase microbiana é uma enzima utilizada na indústria alimentícia para alterar a consistência do alimento original, através da polimerização das proteínas. Uma das principais ações da transglutaminase é catalisar a ligação entre o grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo de lisina com o grupo  $\gamma$ -carboxamida (acila) de um resíduo de glutamina, criando uma ponte intra ou intermolecular altamente resistente à proteólise. Isto resulta na formação de ligações covalentes entre aminoácidos da mesma proteína e entre várias moléculas de proteínas, promovendo a sua polimerização.

A transglutaminase microbiana começou a ser usada na indústria alimentícia para preparação de alimentos como o kamaboko, uma pasta de peixe tradicional no Japão. A realização de algumas pesquisas pelos laboratórios de pesquisa alimentar em Kawasaki (Life Science Laboratories) da Ajinomoto no Japão, no final dos anos 80 com a transglutaminase microbiana do *Streptovercillium mobaraense* incentivou seu uso para outras aplicações. Neste projeto, inicialmente, realizou-se o desenvolvimento e projeção do vetor de clonagem utilizado para a produção do plasmídeo contendo o gene da transglutaminase com o auxílio de programas de bioinformática. Com o vetor final, foi feita a clonagem do plasmídeo projetado pelo laboratório em microrganismo de expressão *Escherichia coli* BL21 e a confirmação da clonagem a partir da reação de digestão com enzimas de restrição, que foi feita em banho seco à 37°C por 6h, e verificação em gel de agarose 1% m/v.

Confirmada a clonagem, realizou-se a expressão da proteína alvo com indução da expressão por meio de IPTG 10% v/v e arabinose 0,2% v/v; o crescimento bacteriano foi feito em agitadores orbitais à 20°C com pontos de coleta em 24 e 44 horas. Posteriormente, as células de expressão coletadas foram centrifugadas para separação do material citoplasmático, então lavadas com solução PBS para limpeza do material celular, centrifugadas novamente e coletado o material sobrenadante para análise proteômica em gel SDS-Page 12%.

A expressão não foi satisfatória, pois não conseguimos notar diferenciação entre o controle negativo e as amostras induzidas. Seguimos realizando a indução da expressão proteica, agora, alternando parâmetros como temperatura de crescimento bacteriano e concentração de IPTG e arabinose para, futuramente, obtermos a proteína clonada. Assim que obtida a proteína, a próxima etapa do trabalho visa o cultivo escalonado para aplicação industrial em biorreatores.