



Evento	Salão UFRGS 2020: SIC - XXXII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2020
Local	Virtual
Título	Imobilização Sítio-Dirigida de Dextransucrases Modificadas em Suportes Tiol Reativos
Autor	GABRIELLE FAGUNDES BORGES
Orientador	RAFAEL COSTA RODRIGUES

Imobilização sítio-dirigida de dextransucrases modificadas em suportes tiol reativos

Gabrielle Fagundes Borges

Rafael C. Rodrigues

Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos - UFRGS

As Dextransucrases são enzimas responsáveis pela síntese de polímeros de dextrana e de oligossacarídeos. Estes produtos possuem um amplo valor industrial, em indústrias farmacêuticas e de alimentos. Para a aplicação em grande escala, é desejável a imobilização, uma vez que essa ferramenta possui vantagens como a facilidade na separação da enzima dos produtos da reação, aumento da estabilidade térmica e a diferentes pHs, o uso em processos contínuos e a possibilidade de reuso da enzima. Entretanto, estes biocatalisadores apresentam alguns problemas devido a propriedades da enzima nativa que dificultam sua imobilização. A fim de superar essas dificuldades, foram utilizadas técnicas de expressão da enzima Dextransucrase (DSR) de *Leuconostoc mesenteroides* B-512F em *Escherichia coli*, além do uso de mutagênese sítio-dirigida para orientar a imobilização. O presente estudo tem como principal objetivo investigar a imobilização dirigida das enzimas DSR mutantes, para a síntese de oligossacarídeos. Foram estudadas 12 enzimas mutantes em que em cada uma delas foi feita a introdução de uma cisteína em lugar de uma serina. As enzimas foram purificadas por cromatografia de afinidade em resina de níquel através da utilização de um gradiente crescente de imidazol. A seguir, as enzimas purificadas foram imobilizadas em diferentes suportes a base de agarose ativados com diferentes grupamentos tiol, através de pontes dissulfeto entre a cisteína introduzida e o grupamento reativo do suporte. Com o suporte de TS-agarose os níveis de imobilização das enzimas DSR mutantes foram baixos e a imobilização com resultados mais promissores foi a realizada em suporte de 2-piridildissulfeto-agarose. A exemplo, a enzima DSR10 com rendimento de imobilização de 49%, uma eficiência de 64% e um suporte de 286U por grama. Como perspectiva, pretende-se ampliar testes de imobilização em 2-piridildissulfeto com todos os mutantes estudados e realizar sua caracterização quanto ao seu reuso, estabilidade térmica e produção de oligossacarídeos.