

298

PURIFICAÇÃO PARCIAL DE UMA QUERATINASE DE *BACILLUS SUBTILIS*. *Walter O. Beys da Silva, Alexandre J. Macedo, Carlos Termignoni* (Departamento de Biotecnologia e Biologia Molecular, Centro de Biotecnologia – UFRGS).

Proteases de microrganismos estão entre os principais grupos de enzimas usadas em processos industriais. Sua importância na indústria do couro é evidente, já que poderia permitir o processamento do couro com resíduos de menor risco ambiental. Neste trabalho, apresentamos um processo de purificação parcial de uma queratinase de *Bacillus subtilis*. Testes preliminares mostraram que esta enzima é eficiente na depilação do couro. Uma cepa de *Bacillus subtilis* com potencial para degradar pêlo foi selecionada, em nosso laboratório, a partir de amostras de solo. A bactéria foi cultivada em meio líquido contendo soro de leite e pêlo bovino a 37°C e pH 8,5. As células foram separadas por centrifugação e o sobrenadante da cultura foi usado como material inicial. Após diálise contra tampão Tris-HCl 20mM pH 8,5, o sobrenadante foi liofilizado. Este material foi ressuspenso em pequeno volume no mesmo tampão e aplicado em coluna de DEAE-Sepharose. A eluição foi feita com NaCl (0 – 1,0M) no mesmo tampão. A cromatografia apresentou dois picos com atividade sobre azoqueratina, keratin azure e caseína fluorescente. Frações do pico de maior atividade foram agrupadas e reprocessadas na mesma coluna de troca iônica. Esta segunda purificação comprovou que o *Bacillus subtilis* secreta duas queratinases, uma interagindo com a resina aniônica e outra não. A purificação e caracterização desta enzima é importante para uma futura etapa de clonagem. (CNPq, UFRGS).