

EXPRESSÃO E CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL E BIOFÍSICA DE GLICOSIL-HIDROLASES TERMOFÍLICAS COM APLICAÇÃO NA HIDRÓLISE DE BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA

Fabio M. Squina

Pesquisador – CTBE

O bagaço da cana-de-açúcar é, atualmente, um dos principais resíduos da indústria sucroalcooleira no Brasil. Constituído majoritariamente por celulose, hemicelulose e lignina, esse subproduto representa uma importante fonte de açúcares redutores para fermentação alcoólica. O processo de hidrólise consiste na conversão da biomassa celulósica em açúcares fermentescíveis, seja via processos químicos (hidrólise ácida) ou biológicos (hidrólise enzimática). Diversas enzimas, como celulasas, hemicelulasas e outras proteínas acessórias, atuam de forma sinérgica na bioconversão do bagaço a monossacarídeos fermentescíveis. Nesse sentido e visando aplicações biotecnológicas, enzimas termofílicas são vantajosas em relação aos coquetéis comerciais atuais, pois atuam em altas temperaturas e são mais estáveis, permitindo maior flexibilidade e controle de processos. Assim, no presente trabalho é proposta a expressão heteróloga de 5 glicosil-hidrolases (três β -glicosidases, uma endo- β -1,4-gucanase e uma endo- β -1,3-glucanase) de origem de bactérias extremófilas, como *Thermotoga petrophila* e *Pirococcus furiosus*, para estudos funcionais e biofísicos visando entender o modo de operação dessas enzimas. Para isso, as enzimas recombinantes, cujos genes já estão clonados em pET28a, serão expressas em *Escherichia coli* e purificadas por cromatografia de afinidade e, se necessário gel filtração. Será feita a caracterização bioquímica dessas hidrolases, incluindo o perfil de pH e temperatura ótimos para atividade, parâmetros cinéticos (K_m , V_{max} , K_{cat}), e parâmetros termodinâmicos ($t_{1/2}$, T_m), além dos estudos biofísicos (dicroísmo circular, calorimetria por DSC e SAXS). Posteriormente, com base nesses resultados preliminares, será proposta a construção de proteínas quiméricas a

O CTBE integra o Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM) gerido pela ABTLuS para o MCT



Laboratório Nacional de Ciência
e Tecnologia do Bioetanol



partir das estruturas originais. Para tanto serão combinados domínios de diferentes enzimas pela técnica de *overlap* PCR. Essas novas proteínas serão avaliadas bioquímica e biofisicamente, buscando-se obter enzimas bifuncionais, que tenham atividade sobre mais de um substrato, e que possivelmente representem ganhos no processo de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar.

O CTBE integra o Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM) gerido pela ABTLuS para o MCT

Campus: Rua Giuseppe Máximo Scolfaro, 10.000 - Pólo II de Alta Tecnologia - Campinas - SP
Correspondência: Caixa Postal 6170 - CEP: 13083-970 - Campinas - SP
Telefone: (19) 3512.1010 - Fax: (19) 3518.3164 - www.bioetanol.org.br

