

CLONAGEM, EXPRESSÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA PROTEASE DO LÁTEX DE CALOTROPIS PROCERA

XXXVIII Encontro de Iniciação Científica

Samuel Freire Freitas, Marcio Viana Ramos, Cleverson Diniz Teixeira de Freitas

Os objetivos deste trabalho foram caracterizar e avaliar o potencial biotecnológico de uma protease cisteínica purificada a partir de *Calotropis procera* (CpCP3). CpCP3 foi altamente expressa em *Escherichia coli*. Apesar da presença de uma TAG para facilitar a sua solubilização (TAG-SUMO), a protease foi expressa de forma insolúvel. Vários protocolos de solubilização foram realizados para a obtenção da protease solúvel e a melhor solução foi Urea 7 M. A protease foi purificada e sua atividade proteolítica avaliada. Infelizmente a protease não apresentou atividade proteolítica. O projeto também avaliou o potencial biotecnológico da protease nativa. Verificou-se que esta enzima é altamente estável a diferentes íons metálicos e foi capaz de hidrolisar a kappa-caseína de forma semelhante à quimosina bovina. A microscopia de força atômica mostrou que o processo de agregação de micelas de caseína induzida por CpCP3 foi semelhante ao causado pela quimosina. Os queijos produzidos com CpCP3 apresentaram maior teor de umidade do que os produzidos com quimosina, mas proteínas, gorduras e cinzas foram semelhantes. A análise *in silico* previu a presença de apenas dois peptídeos alergênicos curtos na superfície do CpCP3. A CpCP3 foi altamente suscetível a enzimas digestivas e não alterou a morfologia e o desenvolvimento dos embriões de peixe-zebra, confirmando sua baixa toxicidade. Posteriores ensaios deverão ser realizados para a obtenção de CpCP 3 recombinante de forma solúvel e ativa.

Palavras-chave: *Escherichia coli*. Látex. Protease. Expressão Heteróloga.