

EXPRESSÃO EM *ESCHERICHIA COLI* DE ENZIMAS PARA DESCONSTRUÇÃO DA QUITINA, CODIFICADAS NO GENOMA DE *CHROMOBACTERIUM VIOLACEUM*: AVALIAÇÃO DO EFEITO DA TEMPERATURA DURANTE A INDUÇÃO SOBRE A SOLUBILIDADE DAS PROTEÍNAS RECOMBINANTES

XXXVIII Encontro de Iniciação Científica

Gabriela Mesquita Lopes de Lima, Thalles Barbosa Grangeiro

Enzimas capazes de degradar quitina, um polissacarídeo recalcitrante abundante na natureza, estão presentes em muitos microrganismos. Essas enzimas têm potencial para serem utilizadas no desenvolvimento de produtos inovadores para a agricultura, medicina e indústria, tais como antifúngicos e quito-oligossacarídeos com atividade antibacteriana e com capacidade de suprimir tumores. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da temperatura, durante a indução da expressão heteróloga em células de *E. coli*, sobre a solubilidade de enzimas codificadas no genoma de *C. violaceum* ATCC 12472, que possam atuar na degradação da quitina e, possivelmente, exibirem ação contra fungos patogênicos. Para testar essa hipótese, foram realizadas inicialmente análises *in silico*, a fim de avaliar a probabilidade de diferentes enzimas quitinoclásticas de *C. violaceum* serem produzidas de forma solúvel quando expressas intracelularmente em *E. coli*. Após essas análises, algumas proteínas com maior propensão à solubilidade foram escolhidas, representando membros das famílias AA10 (3 proteínas), GH3 (2 proteínas) e GH23 (3 proteínas). Plasmídeos contendo as sequências de DNA codificando essas proteínas foram então introduzidos em *E. coli* BL21(DE3) e a expressão das moléculas recombinantes foi realizada em diferentes temperaturas (20 °C, 25 °C, 30 °C e 35 °C), em escala piloto. A análise por eletroforese (SDS-PAGE) das frações intracelulares de células induzidas, revelou em todas as amostras, a presença de bandas com massas moleculares aparentes que correspondiam aos valores esperados, com base nas massas calculadas a partir das sequências. Além disso, parte considerável de cada proteína recombinante foi produzida de forma solúvel, com maiores níveis de expressão nas temperaturas iguais a 20 °C (1 proteína), 25 °C (1 proteína) ou 30 °C (6 proteínas). Isso abre precedentes para a produção e purificação, em larga escala, de proteínas quitinolíticas recombinantes com potencial antifúngico.

Palavras-chave: Quitina. Quitinases. *Chromobacterium violaceum*. *Escherichia coli*.