

PRODUÇÃO E PURIFICAÇÃO DE UMA β -XILOSIDASE DO FUNGO *CERATOCYSTIS FIMBRIATA*

Marcele Pandeló Martins*, Gabriela Píccolo Maitan-Alfenas, Lorena Gusmão Alvarenga Lage, Valéria Monteze Guimarães.

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, 36570-900. Viçosa, Brasil.

*marcelepandelo@hotmail.com

Resumo

As β -xilosidases catalisam a hidrólise de xigooligossacarídeos através da remoção de unidades xilosil em sua região não redutora. Estas são enzimas de interesse biotecnológico, principalmente para produção do álcool combustível. *Ceratocystis fimbriata* é um fungo fitopatogênico causador de doenças em diversas culturas. O objetivo deste trabalho foi cultivar o fungo *C. fimbriata* para produção da enzima β -xilosidase, purificar, determinar sua massa molecular e tentar comprovar sua identidade. O fungo foi cultivado por 168 h em meio mínimo mineral contendo farelo de trigo como fonte de carbono. Após este período, o meio foi filtrado, centrifugado e utilizado como fonte de β -xilosidases. A enzima foi purificada por cromatografia de troca iônica, ultrafiltração, e eletroforese em gel de poliacrilamida, obtendo 5 bandas no total. Para determinação da banda correspondente à enzima, fez-se um zimograma com o substrato sintético pNP β xil. Logo após, a banda correspondente a β -xilosidase foi submetida a uma etapa de tripsinização em gel e posterior fragmentação em espectômetro de massa MALDI TOF/TOF com análise no MASCOT para busca referente a proteínas de fungos na base de dados do NCBI. Em todas as etapas foram realizadas atividades enzimáticas com pNP β xil para verificação da presença da enzima. Observou-se que as etapas de purificação foram eficientes por se obter a enzima purificada, sem grande perda de sua atividade, sendo a massa molecular desta, estimada em 161 kDa pela eletroforese em gel. Na análise por espectrometria, obteve-se baixa similaridade com a proteína hipotética PANT_20d0003 da levedura *Pseudozyma antarctica* T-34. Entretanto não há dados disponíveis nos bancos de dados referentes a enzimas de *C. fimbriata*, comprometendo esta análise. Os resultados indicam que a enzima é

uma β -xilosidase e novos experimentos devem ser realizados para o estudo das aplicações biotecnológicas desta enzima.

Palavras-chave: β -xilosidase, *Ceratocystis fimbriata*, espectrometria de massas

Apoio financeiro: CNPq, FAPEMIG