

Programa:	DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA EM MEDICAMENTOS (23001011047P1)
Título:	PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO PARCIAL E PURIFICAÇÃO DE COLAGENASE PRODUZIDA POR <i>Penicillium</i> sp. UCP 1286 ISOLADO DA CAATINGA
Autor:	MARIA CAROLINA DE ALBUQUERQUE WANDERLEY
Tipo de Trabalho de Conclusão:	TESE
Data Defesa:	28/03/2016
Resumo:	<p>Colagenases são enzimas específicas capazes de degradar a tripla hélice do colágeno nativo ou desnaturado. A busca por novas colagenases microbianas têm aumentado bastante ao longo dos anos. Uma nova cepa de <i>Penicillium</i> sp. (UCP 1286) isolada do solo da Caatinga, um bioma exclusivamente brasileiro, foi selecionada para produção de colagenase. O meio de cultura utilizado possuía apenas gelatina como fonte de carbono e nitrogênio. A atividade colagenolítica alcançada foi cerca de 2,7 vezes maior que os valores descritos na literatura, tanto para a atividade volumétrica (379,79 U/mL) quanto específica (1.460,77 U/mg), no intervalo de tempo de 126 horas de produção. A partir da aplicação de planejamento fatorial, a produção da enzima aumentou 65% em comparação com os resultados preliminares obtidos, sendo equivalente a 632,70 U/mL de atividade colagenolítica. A caracterização da enzima mostrou que o pH e temperatura ótimos foram, respectivamente, 9,0 e 37 °C. Devido à inibição total pelo fenilmetilsulfonil fluoreto, a enzima parece estar classificada na família das serinocolagenases. Com relação à especificidade, a colagenase produzida por <i>Penicillium</i> sp. UCP 1286 apresentou maior atividade quando utilizado o azocoll como substrato, não apresentando atividade relevante quando testada frente à azocaseína. Comparando-se a capacidade de degradação da enzima produzida por <i>Penicillium</i> sp. com a enzima comercial produzida por <i>Clostridium histolyticum</i>, a primeira apresentou maior especificidade ao colágeno tipo V e à gelatina. A principal banda observada na eletroforese correspondeu ao peso molecular de 37 kDa, e o zimograma confirmou atividade colagenolítica. A purificação por Sistema Duas Fases Aquosas (SDFA) foi eficiente para a colagenase produzida por <i>Penicillium</i> sp. UCP 1286. A corrida com maiores valores de rendimento e coeficiente de partição foram as do ponto central do planejamento fatorial, utilizando PEG 3350 g/mol a 15% (m/m) de concentração, e fosfato com pH 7 e concentração 12,5% (m/m). Os resultados indicam que a enzima é um produto biotecnológico promissor.</p>
Palavras-Chave:	Enzima Colagenolítica; <i>Penicillium</i> ; Colágeno; Planejamento Fatorial; SDFA
Abstract:	<p>Collagen specific enzymes are capable of degrading triple helix of the native or denatured collagen. The search for new microbial collagenases has greatly increased over the years. A new strain of <i>Penicillium</i> sp. (UCP 1286) isolated from soil of Caatinga, an exclusively Brazilian biome, was selected for the production of collagenase. The culture medium used had only gelatin as a source of carbon and nitrogen. The collagenolytic activity achieved was about 2.7 times higher than the values reported in the literature, both for volumetric activity (379.79 U/mL) and specific activity (1460.77 U/mg) in a time interval of 126 hours of production. With factorial design application, enzyme production increased 65% compared to the preliminary results, equivalent to 632.70 U/mL of collagenolytic activity. The characterization of the enzyme showed that the optimum pH and temperature were, respectively, 9.0 and 37 °C. Due to the total inhibition by phenylmethylsulfonyl fluoride, the enzyme seems to be classified in the family of serinocollagenases. With regard to specificity, collagenase produced by <i>Penicillium</i> sp. UCP 1286 showed higher activity when used as a substrate azocoll, showing no activity when tested against the azocasein. Comparing the enzyme degradation capacity produced by <i>Penicillium</i> SP. With commercial enzyme produced by <i>Clostridium histolyticum</i>, the first presented more specific to type V collagen and gelatin. The major band observed in electrophoresis corresponded to the molecular weight of 37 kDa, and zimogram confirmed collagenolytic activity. The purification technique via aqueous two-phase system (ATPS) was effective for collagenase produced by <i>Penicillium</i> sp. UCP 1286. The run with better values of yield and partition coefficient were at runs on center point, using PEG 3350 g/mol at 15.0% (w/w) concentration, and phosphate at pH 7.0 and concentration 12.5% (w/w). Results indicate that the enzyme is a promising biotechnological product.</p>
Keyword:	Collagenolytic enzyme; <i>Penicillium</i> ; Collagen; factorial design; ATPS
Volume:	
Páginas:	171
Idioma:	PORTUGUES
Biblioteca Depositária:	UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
Autorização de divulgação:	O trabalho não possui divulgação autorizada