

Programa Institucional de Bolsas
de Iniciação Científica PIBIC

23 a 25
outubro

Pró-Reitoria de Pesquisa - Pibic/CNPq
Pró-Reitoria de Graduação - SAE/Unicamp



E0610

A UTILIZAÇÃO DA PROTEÍNA SILICATEÍNA MUTANTE NA FORMAÇÃO DE BIOSILICATOS

Gustavo Inácio Cunha Alves (Bolsista PIBIC/CNPq) e Prof. Dr. Alvicler Magalhães (Orientador), Instituto de Química - IQ, UNICAMP

Neste trabalho foi iniciado o estudo da otimização da expressão e purificação da silicateína mutante (truncada), a qual catalisa os mecanismos e os processos de polimerização de biosilicatos. A obtenção de sua estrutura tridimensional deve ajudar no entendimento do processo de formação destes compostos. Nesta primeira etapa foi determinada empiricamente a melhor condição de expressão e tampão para “refolding” da proteína purificada a partir de corpos de inclusão. Bactérias E.coli BL21(DE3) foram transformadas com o gene da proteína previamente clonado em pET28a; em seguida essas células foram induzidas à super expressão da proteína. A melhor condição de expressão se deu em meio LB, com indução iniciada em $DO_{600} = 0,6$ com 0,4 mmol/L de IPTG a 37 °C por 3 horas. A proteína apresentou-se expressa na forma de corpos de inclusão, sendo, portanto, a purificação realizada via coluna de afinidade (His-Trap) em condição desnaturante com eluição da proteína em 100 mmol/L de imidazol. A melhor condição tamponante (dentre 15 diferentes condições) de “refolding” se deu em tampão Tris-HCl 50 mmol/L, pH 8,5, contendo Gnd-HCl 750 mmol/L, NaCl 240 mmol/L, KCl 10 mmol/L, EDTA 1 mmol/L, L-arginina 200 mmol/L, Triton X-100 0,5% e DTT 1 mmol/L.

Silicateína mutante - Silicateína - Biosilicato