

Instituto de Tecnologia Química e Biológica
Instituto de Biologia Experimental e Tecnológica
Universidade Nova de Lisboa
Apartado 12, 2781-901 OEIRAS PORTUGAL
Telf: 21 446 95 54, Fax: 21 441 12 77

TITULO DO ESTÁGIO: Purificação e caracterização de celulases de *Crysonilia sitophila*

Foi isolado o fungo *Crysonilia sitophila* como dominante ao longo do processo fabril de rolhas de cortiça, (Danesh *et al.*, J. Appl. Microbiology, 82: 689-694, 1997).

A cortiça é um ambiente aparentemente hostil ao desenvolvimento microbiano. A actividade de água é baixa e os nutrientes não estão numa forma facilmente assimilável. Muitos fungos são microaerofílicos e possuem o equipamento enzimático que lhes permite catabolizar material vegetal, predominantemente celulose, hemicelulose e também lenhina.

A elucidação dos mecanismos de decomposição da celulose tem incidido sobre estudos com *Trichoderma*, *Sporotrichum*, *Aspergillus*, *Penicillium*. O sistema celulase mais intensivamente estudado é o produzido por *Trichoderma viride*. Trata-se de um sistema complexo formado por três actividades enzimáticas diferentes: exo e endoglucanase e 1,4- β -glucosidase (Fungal Physiology, David Griffin, 1994, Wiley-Liss, NY). A actividade celulolítica envolve 3 enzimas: β -glucosidase, exo e endoglucanase. Estas enzimas foram já estudadas em outros sistemas. Pretende-se verificar qual a composição do complexo enzimático envolvido no metabolismo de hidratos de carbono por *C. sitophila*.

Em trabalho anterior verificou-se que as enzimas endoglucanase e β -glucosidase de *C. sitophila* apresentam um máximo de actividade após cerca de 50 horas de crescimento, propõe-se:

- realizar crescimentos em meio líquido em grande escala, interrompendo-se o crescimento às 50 horas, utilizando-se estes extractos enzimáticos para concentração e purificação.
- concentrar os extractos utilizando membranas adequadas para sistemas de ultrafiltração
- Para purificação utilizar dois tipos de cromatografia líquido-líquido: filtração gel e troca iónica.

- Optimização de métodos para detectar actividade endoglucanásica e β -glucosidásica ao longo do processo de purificação.

Após separação e purificação das enzimas deverá proceder-se à sua sequenciação e cristalização.

Local:

Laboratório de Fisiologia de microbiota condicionados pelo ambiente

(Laboratory of Physiology of environmentally conditioned microbiota)

Unidade de cristalografia ITQB

ITQB-UNL / IBET

Orientador:

- **Maria Vitória San Romão**, Investigador Coordenador do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Pescas (INIAP); vsr@itqb.unl.pt

Isabel Bento – Investigadora Auxiliar