

RESUMO

Colagenases para aplicações biotecnológicas

O colagénio é uma proteína com funções estruturais e reguladoras, abundante em todos os tecidos animais. Como principal componente na matriz extracelular dos tecidos conjuntivos, tem um papel estrutural fundamental. Contribui para a manutenção dos tecidos conferindo-lhes força e elasticidade específicas e assegura o formato e integridade celulares.

As colagenases são enzimas, mais especificamente, metaloproteinases com um domínio de ligação a zinco característico. Estas enzimas são capazes de digerir os vários tipos de colagénio, clivando múltiplas ligações peptídicas da região em tripla hélice do colagénio nativo. As primeiras colagenases a serem identificadas e caracterizadas são produzidas por *Clostridium histolyticum*.

Atualmente, as colagenases bacterianas têm várias aplicações industriais. Na clínica são utilizadas no tratamento de doenças associadas a acumulação excessiva de colagénio, para o tratamento da Doença de Dupuytren, para desbridamento de queimaduras e feridas, assim como em terapia génica oncológica. Embora tenham um leque alargado de aplicações, a diversidade de colagenases comerciais é restrita a enzimas de *Clostridium* e *Vibrio*.

Recentemente, foi identificado em *Aeromonas* spp. um gene que codifica para uma potencial colagenase. Recorrendo à tecnologia de DNA recombinante, este gene foi isolado e clonado para ser expresso por uma estirpe de *E.coli*.

Sara Abreu[•]

Eliana Cavaleiro

António Correia

Ana Cristina Esteves

Ana Sofia Duarte

DBio & CESAM, Universidade de Aveiro

[•] abreusara@ua.pt

O objetivo deste trabalho é caracterizar e demonstrar o potencial biotecnológico desta collagenase bacteriana – ColAh. Este estudo inclui a otimização da purificação da collagenase recombinante, avaliação da sua atividade proteolítica, bem como a sua estabilidade ao armazenamento.

Após purificação da proteína recombinante, a análise por SDS-PAGE demonstrou que ColAh possui o peso molecular esperado de 100kDa. Foi possível demonstrar a sua atividade por zimografia de gelatina, digestão de colagénios e contra o péptido sintético N-(3-[2-Furyl]acryloyl)-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA). Uma série de ensaios de estabilidade da enzima foi estabelecida por comparação com collagenases comerciais. As enzimas foram incubadas a -20°C, 4°C e à temperatura ambiente, durante 1, 4, 7 e 18 dias. A análise dos perfis de zimografia demonstra uma maior estabilidade de ColAh.

A determinação dos parâmetros cinéticos está em curso e permitirá melhor definição do valor biotecnológico de ColAh. O trabalho futuro inclui estudos comparativos de aplicação de ColAh no estabelecimento e manutenção de células em cultura.



PALAVRAS-CHAVE: colagénio, metaloproteases, gelatina, FALGPA

agradecimentos • À FCT pela bolsa de pós-doutoramento a Ana Sofia Duarte (BPD/46290/2008), e ao IAPMEI e QREN, Mais Centro- Programa Operacional Regional do Centro e União Europeia/Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional pelo Passaporte para o Empreendedorismo a Eliana Cavaleiro.