

**Barreto, Matheus Quintana. Estudos funcionais e estruturais da xilose isomerase de *Piromyces* sp., 2022. 139 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.**

Xilose isomerases (XIs) são enzimas que catalisam a isomerização de D-xilose a D-xilulose *in vivo*, sendo também capaz de isomerizar outros açúcares, como D-glicose, D-ribose, L-arabinose, entre outros. A xilose isomerase de *Piromyces* sp. E2 (PirE2\_XI) foi a primeira XI eucariótica eficientemente expressa em *S. cerevisiae* e segue como uma das enzimas mais utilizadas para a engenharia dessa levedura para a produção de etanol a partir de xilose. Dada sua importância para a engenharia metabólica de microrganismos, poucos estudos visaram à caracterização bioquímica dessa enzima, com diferentes trabalhos relatando parâmetros divergentes para esta enzima. Neste trabalho nós buscamos caracterizar os parâmetros bioquímicos de PirE2\_XI contra três monossacarídeos diferentes, analisamos a termoestabilidade e possíveis novas funções para esta enzima. Realizamos a imobilização de PirE2\_XI sobre um suporte ferromagnético e caracterizamos as propriedades cinéticas da enzima imobilizada contra xilose. A estrutura da enzima foi analisada por métodos biofísicos para verificar mudanças estruturais da enzima na presença ou ausência de substrato. Nossos resultados demonstram que PirE2\_XI é uma enzima promíscua capaz de isomerizar D-xilose, D-glicose, D-ribose e L-arabinose em diferentes condições e termoestável a 30 e a 60 °C, com capacidade de epimerizar D-xilose. A enzima imobilizada manteve as mesmas propriedades bioquímicas da enzima livre e foi passível de ser reutilizada por 10 e 15 ciclos de reuso a 60 e 30 °C, respectivamente. Análise da estrutura da enzima mostra que a estrutura quaternária é alterada na presença de xilose. Este é o primeiro relato de epimerização por PirE2\_XI, provendo um compreensivo estudo *in vitro* da especificidade de PirE2\_XI, efeito de íons divalentes em sua atividade e da temperatura na atividade e estrutura da enzima.

**Palavras Chaves:** xilose isomerase; epimerase; enzima promíscua