Evento	Salão UFRGS 2024: FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DA UFRGS - FINOVA
Ano	2014
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Construção de cepas de leveduras capazes de degradar glúten utilizando técnicas de optogenética
Autor	GUILHERME EDUARDO PAVÃO DA SILVA
Orientador	DIEGO BONATTO

TÍTULO DO PROJETO: Construção de cepas de leveduras capazes de degradar glúten utilizando técnicas de optogenética

Aluno: Guilherme Eduardo Pavão da Silva
Orientador: Diego Bonatto

RESUMO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS PELO BOLSISTA

A doença celíaca representa um desafio significativo para a saúde global, necessitando de um amplo mercado de alimentos e produtos livres de glúten. Frequentemente esses itens são fabricados de maneira distinta em comparação às suas formas originais, exigindo a utilização de grãos naturalmente desprovidos de glúten ou métodos de processamento livres de glúten. No caso da cerveja, que é derivada da fermentação do mosto de cevada, ela apresenta teores elevados de glúten, o que impossibilita o seu consumo por celíacos. Diante disso, o objetivo deste estudo é produzir uma cerveja sem glúten, aproveitando o potencial de leveduras capazes de degradar essa proteína, por meio da expressão de prolil endopeptidases (PEPs) de origem bacteriana. O controle dessa expressão será feito por interruptores optogenéticos. Para tanto, foram gerados três vetores integrativos recombinantes (pLEV): dois com diferentes marcas de seleção que promovem prototrofia de aminoácidos e um com resistência à canamicina. A construção desses vetores foi realizada empregando diferentes técnicas de biologia sintética para a concatenação dos componentes que incluem uma marca de seleção de transformantes, um aparato de expressão heteróloga, um sítio múltiplo de clonagem e origens de replicação bacteriana e de leveduras. A confirmação das construções foi realizada por restrição enzimática e por PCR. A confirmação do potencial de expressão dos vetores pLEV em levedura foi feita utilizando a proteína verde fluorescente (GFP) dividida em duas partes que ao serem combinadas deram origem a uma GFP funcional. Foi utilizado duas cepas haploides de leveduras, cada uma contendo uma versão do vetor pLEV contendo uma parte da GFP dividida, que foram hibridizadas em meio seletivo gerando um híbrido diploide capaz de expressar a proteína fluorescente verde funcional.

Além disso, foi necessário gerar novos desenhos *in silico* de novos vetores após verificarmos resultados não específicos das restrições enzimáticas dos pLEVs. Os novos vetores foram nomeados como pLAGs e possuem os mesmos componentes do pLEV, mas sem a adição de sítios de restrição que permitiriam uma modularidade das marcas de seleção. Também foram feitos os desenhos dos componentes que serão utilizados para os interruptores optogenéticos para o controle de expressão da PEP. A construção deles seguirá o mesmo protocolo de teste da GFP dividida em duas partes gerando um híbrido diploide contendo todo o aparato de controle optogenético.