



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2022: FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DA UFRGS - FINOVA
<b>Ano</b>	2022
<b>Local</b>	Campus Centro - UFRGS
<b>Título</b>	Construção de cepas de leveduras capazes de degradar glúten utilizando técnicas de optogenética
<b>Autor</b>	GUILHERME EDUARDO PAVÃO DA SILVA
<b>Orientador</b>	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 é um grande problema de saúde mundial, demandando todo um mercado de alimentos e produtos livres de glúten. Muitas vezes esses produtos possuem métodos de produção totalmente diferentes de suas versões originais, exigindo o uso de grãos que naturalmente não contenham glúten ou processos livres de glúten. A cerveja, sendo um produto oriundo da fermentação de mosto de malte de cevada, possui altos níveis de glúten, o que impede seu consumo por pessoas portadoras de doença celíaca. Sendo assim, esse trabalho visa a produção de uma cerveja livre de glúten utilizando leveduras com a capacidade de degradar essa proteína por meio da expressão de prolil endopeptidases (PEPs) bacterianas. Realizando uma série de prospecções utilizando ferramentas como alinhamento global e local de estruturas primárias, predição de estruturas secundárias e terciárias, e análise da estrutura tridimensional das proteínas foi possível encontrar três candidatas em potencial que são compatíveis com o modelo da PEP de *Chryseobacterium taeaanense* que sabidamente degrada glúten. As candidatas são: *Sporosarcina koreensis*, *Sporosarcina luteola* e *Virgibacillus necropolis*.

Para expressar essas proteínas iremos utilizar interruptores optogenéticos. Seus fotorreceptores passam por mudanças conformacionais através de estimulação luminosa e assim controlam diferentes processos. Utilizando também o domínio LOV (Light-oxygen-voltage) que interage com luz e possui grande capacidade de expressão de proteínas heterólogas e controle espaço-temporal dessa expressão. O vetor dessa construção será o plasmídeo pLEV\_1.0\_Sce, gerado inicialmente in silico e contém uma sequência de seleção de transformantes para leveduras (gene KanMX, uma sequência de replicação para *Escherichia coli* e uma marca de resistência à ampicilina e a sequência codificante para rRNA 35S de *Saccharomyces cerevisiae*. Essas três partes de DNA serão amplificadas por um PCR de alta fidelidade e concatenadas usando a reação de Gibson. Uma vez gerado o vetor pLEV\_1.0\_Sce será introduzido neste as sequências codificantes para o domínio LOV, para os fotorreceptores e para a enzima prolil-endopeptidase.