



Evento	Salão UFRGS 2024: SIC - XXXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2024
Local	Virtual
Título	Desenvolvimento de ferramentas para clonagem in vivo e produção de PHB em sistema cell free de Vibrio natriegens
Autor	FELIPE VIEIRA DOS SANTOS LOPES
Orientador	DIEGO BONATTO

RESUMO 36° SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA



Agosto – 2024

TÍTULO DO PROJETO: Desenvolvimento de ferramentas para clonagem *in vivo* e produção de PHB em sistema *cell free* de *Vibrio natriegens*

NOME DO ALUNO: Felipe Vieira dos Santos Lopes

DADOS DO ORIENTADOR

Orientador: Diego Bonatto

Data de defesa do doutorado: 01/04/2005

Data de ingresso na UFRGS: 18/02/2010

Bolsa de Produtividade PQ ou DT: PQ 1D

Link do currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2915446717051640>

Número ORCID: 0000-0001-8679-2448

Período em que as atividades foram executadas: Fevereiro de 2024 à Agosto de 2024

Projeto de pesquisas vinculante: Desenvolvimento de ferramentas moleculares baseadas em CRISPR-Cas9/Cas12a para a edição de genes e genomas de leveduras industriais (Projeto número 43464 - Instituto de Biociências da UFRGS)

Vibrio natriegens, uma bactéria marinha conhecida por ter a maior taxa de crescimento, tem atraído interesse na comunidade de biologia sintética. Na busca por alternativas aos plásticos convencionais, o poli-3-hidroxibutirato (PHB) destaca-se como um substituto promissor devido à sua biodegradabilidade e sustentabilidade. O PHB é sintetizado pelas enzimas PhaA, PhaB1 e PhaC1, mas sua produção em microrganismos enfrenta desafios devido à complexidade dos sistemas metabólicos e na dificuldade de manter o equilíbrio do fluxo intracelular, tornando a produção *in vivo* ineficiente e cara. Diante disso, os sistemas *cell-free* de síntese de proteínas (CFPS) surgem como uma alternativa atrativa, oferecendo maior rapidez e controle do sistema. O presente estudo tem como objetivo a construção de um operon sintético para a síntese de PHB em *V. natriegens*, utilizando CFPS. A construção envolveu a otimização de elementos genéticos como promotor, sítio de ligação do ribossomo e terminador para garantir a expressão eficiente dos genes de PHB. A manipulação das diferentes partes de DNA foi feita *in silico* utilizando o programa SnapGene (<https://www.snapgene.com/>). O operon foi projetado com base nos genes *phaC1*, *phaA* e *phaB1* da bactéria *Ralstonia eutropha*, com sequências obtidas no iGEM Parts Registry (https://parts.igem.org/Main_Page). O promotor escolhido foi o T7Max, otimizado para

expressão *in vitro*, enquanto o sítio de ligação do ribossomo foi o BBa_B0030 e o terminador o rrnB de *E. coli*, ambos já validados em *V. natriegens*. O operon foi sintetizado dividido em três fragmentos pela empresa GenOne (<https://www.genone.com.br>). Foi feita simulação da concatenação dos três fragmentos com o vetor pUC19 utilizando o método NEBuilder HiFi DNA Assembly, resultando no construto pPHACABEX de 6260 pares de bases. No presente momento, os fragmentos do operon estão sendo manipulados no laboratório para realizar a construção do vetor de expressão pPHACABEX.