



Evento	Salão UFRGS 2024: SIC - XXXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2024
Local	Virtual
Título	Novas formulações enzimáticas para aplicação em alimentos; clonagem, expressão, purificação e produção de transglutaminase recombinante em <i>Pichia pastoris</i>
Autor	ISABELA SFALCIN DA SILVA
Orientador	MARCO ANTONIO ZACHIA AYUB

A transglutaminase é uma enzima versátil encontrada em animais, plantas e bactérias desempenhando papéis cruciais em processos fisiológicos, como coagulação sanguínea, cicatrização de feridas, diferenciação celular, apoptose e formação do citoesqueleto. Sua capacidade de formar ligações covalentes entre as proteínas, a torna essencial na indústria alimentícia, melhorando qualidades estruturais, nutricionais e texturais de diversos produtos. Portanto, este projeto visa desenvolver uma transglutaminase mais estável, capaz de atuar em uma ampla faixa de temperatura e pH, de baixo custo, utilizando *Pichia pastoris* como sistema de expressão. *Pichia pastoris* é uma plataforma de expressão promissora para a produção de transglutaminase devido à sua eficácia na expressão de proteínas recombinantes e à segurança para uso industrial. Através de ferramentas de biologia sintética e molecular, foram gerados três cepas de *GS115*, com plasmídeos integrativos: pPIC9, pPIC9/Inteína e pPIC9/Peroxisomo. As integrações do plasmídeo no genoma da cepa *GS115* foram avaliadas através de restrição enzimática e PCR. O pPIC9 foi utilizado como controle negativo, não possui a sequência codificante de nucleotídeos para a enzima transglutaminase do organismo *Bacillus amyloliquefaciens*. O pPIC9/Inteína, contém uma sequência sinal do fator α de *S. cerevisiae* para exportação da proteína, inteínas que mantêm a transglutaminase inativa durante a expressão e uma inteína mutada Mxe GyrA intein ligada ao domínio de ligação à quitina para purificação. O pPIC9/Peroxisomo possui um sinal de direcionamento peroxissomal PTS1 para exportar a proteína para dentro do peroxissomo e também contém uma inteína mutada Mxe GyrA intein ligada ao domínio de ligação à quitina para purificação. Assim, o desenvolvimento de uma plataforma de expressão de transglutaminase em *Pichia pastoris*, diversifica as fontes dessa enzima no mercado, potencializando a produção de uma TGase mais eficiente e econômica, capaz de operar em diversas condições, atendendo às demandas da indústria alimentícia e reduzindo custos de produção.