

EVOLUÇÃO DIRECIONADA DE GLICOSIDASE PELA TÉCNICA DE PHAGE DISPLAY

Taiza Lemes da Silva¹, Leonardo Antonio Fernandes², Vinícius R. D. Florentino², Maria de Lourdes Borba Magalhaes³

¹ Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária - CAV - bolsista PROBIC/UDESC.

² Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária – CAV.

³ Orientadora, Departamento de Produção Animal e Alimentos - CAV – maria.magalhaes@udesc.br.

Palavras-chave: Bioetanol. Beta-glicosidade. *Escherichia coli*.

O bioetanol de segunda geração é formado a partir do tratamento químico e enzimático da biomassa lignocelulósica. Para isso, a otimização da hidrólise enzimática da celulose é crucial para a produção econômica de bioetanol. Uma das enzimas responsáveis pela produção de bioetanol é a beta-glicosidase A (BGLA) que converte celobiose em glicose, a última etapa da via enzimática. Para a viabilidade econômica da hidrólise enzimática de celulose é necessário o desenvolvimento de métodos de alta eficiência e custo reduzido para produção enzimática. Com intuito de reduzir os custos da produção da BGLA, a técnica do Phage Display utiliza bacteriófagos modificados por biologia molecular, de tal forma que cada partícula viral (fago) é capaz de expressar a enzima desejada na superfície viral. Dessa forma, a enzima pode ser produzida em bactérias e secretadas para o meio reduzindo os custos de maneira eficiente. O objetivo do presente projeto é a produção bacteriana de BGLA na superfície viral para uso industrial na produção de etanol de segunda geração. O gene da BGLA foi amplificado por PCR, clonado no vetor de clonagem pGEM-T easy e bactérias *E. coli* XL 1 blue foram transformadas com o produto de ligação. As bactérias recombinantes foram semeadas em meio Luria-Bertani enriquecidas com ampicilina para seleção. O DNA plasmidial das bactérias foi extraído e purificado e, posteriormente, digerido com as enzimas de restrição SAL I e HIND III para liberação do fragmento do gene da BGLA de aproximadamente 1500 pares de base. O vetor de expressão viral (fagomídeo) também foi digerido com as mesmas enzimas de restrição para deixá-lo linear. Os DNAs digeridos foram submetidos a eletroforese e resolvidos em gel de agarose 1%. As bandas de DNA foram excisadas, purificadas e os fragmentos de DNA foram submetidos a uma reação de ligação para posteriormente serem transformados em *E. coli* XL1 blue. Espera-se que a BGLA seja expressa no fago e continue ativa desempenhando sua atividade enzimática. Quanto a atividade, espera-se uma velocidade menor devido a imobilização na partícula viral.