

LIVRO DE RESUMOS

SIFSC11

DÉCIMA PRIMEIRA SEMANA DA
GRADUAÇÃO E PÓS-GRADUAÇÃO DO
INSTITUTO DE FÍSICA DE SÃO CARLOS - USP

2021



Universidade de São Paulo
Instituto de Física de São Carlos

XI Semana Integrada do Instituto de
Física de São Carlos

Livro de Resumos

São Carlos
2021

Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos

SIFSC 11

Coordenadores

Prof. Dr. Vanderlei Salvador Bagnato

Diretor do Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Luiz Vitor de Souza Filho

Presidente da Comissão de Pós Graduação do Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Luís Gustavo Marcassa

Presidente da Comissão de Graduação do Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo

Comissão Organizadora

Arthur Deponte Zutião

Artur Barbedo

Beatriz Kimie de Souza Ito

Beatriz Souza Castro

Carolina Salgado do Nascimento

Edgard Macena Cabral

Fernando Camargo Soares

Gabriel dos Reis Trindade

Gabriel dos Santos Araujo Pinto

Gabriel Henrique Armando Jorge

Giovanna Costa Villefort

Inara Yasmin Donda Acosta

Humberto Ribeiro de Souza

João Hiroyuki de Melo Inagaki

Kelly Naomi Matsui

Leonardo da Cruz Rea

Letícia Cerqueira Vasconcelos

Natália Carvalho Santos

Nickolas Pietro Donato Cerioni

Vinícius Pereira Pinto

Normalização e revisão – SBI/IFSC

Ana Mara Marques da Cunha Prado

Maria Cristina Cavarette Dziabas

Maria Neusa de Aguiar Azevedo

Sabrina di Salvo Mastrantonio

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Informação do IFSC

Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos
(11: 06 set. - 10 set. : 2021: São Carlos, SP.)
Livro de resumos da XI Semana Integrada do Instituto de
Física de São Carlos/ Organizado por João H. Melo Inagaki [et al.].
São Carlos: IFSC, 2021.

412 p.

Texto em português.

1. Física. I. Inagaki, João H. de Melo, org. II. Título

ISBN 978-65-993449-3-0

CDD 530

PG91

Produção recombinante e caracterização bioquímica de uma celobiose desidrogenase (CDH) de *Thermothelomyces thermophilus* M77

SAMANIEGO, L. V. B.¹; ARNOLDI, V.¹; POLIKARPOV, I.¹

lbautista@ifsc.usp.br

¹Instituto de Física de São Carlos - USP

A enzima celobiose desidrogenase, CDH, (EC1.1.99.18) é um flavocitocromo extracelular secretado por fungos degradadores de madeira como o ascomiceto *Thermothelomyces thermophilus*. A CDH tem uma estrutura de dois domínios, sendo porção citocromo (domínio Cyt) e uma seção de flavodehidrogenase oxidante de açúcares (domínio DH). O domínio DH catalisa a oxidação $2e^-/2H^+$ do átomo de carbono anomérico (C1) do dissacarídeo celobiose para a celobiono- δ -lactona. (1) Em seguida, ocorre uma transferência de elétrons interdomínio (IET) do FAD reduzido do domínio DH para o grupo heme b do domínio Cyt, seguida pela transferência de elétrons (ET) de Cyt para aceptores de elétrons externos como as mono oxigenases líticas de polissacarídeos (LPMOs). (2) Essas características funcionais tornam a CDH uma enzima capaz de realizar uma diversidade de tarefas biotecnológicas. A necessidade de produzir grandes quantidades dessa enzima de alto peso molecular e de múltiplos domínios, para realizar caracterizações bioquímicas e estruturais, nos leva a procurar um sistema de expressão que satisfaça nossos requisitos. Desta forma, inicialmente escolhemos *Pichia pastoris* por possuir algumas vantagens como elevada produção de biomassa, promotores fortes e sinais eficientes de secreção de proteínas. Com procedimentos fáceis de purificação, a *P. pastoris* torna-se um sistema de alto rendimento bastante atrativo. (3) Obtivemos então através um colaborador de nosso grupo, uma cepa de *P. pastoris* com o gene CDH de *T. thermophilus* (número de acesso: XM_003663334.1) integrado satisfatoriamente ao seu genoma. A partir daí, foi realizado um pré inóculo de *P. pastoris* em meio tamponado complexo contendo glicerol (BMGY) até atingir DO600 de 4,0. Em seguida, o inóculo foi realizado em meio tamponado complexo contendo metanol (BMMY) e adicionamos metanol 100% a uma concentração final de 0,75% a cada 24 horas para manter a indução. Após 120 h, coletamos o sobrenadante e passamos por uma coluna IMAC para recuperar a CHD marcada com His6x, e posteriormente o clivamos com TEV-protease, obtendo uma enzima CDH funcional. Em seguida, testamos a atividade enzimática, empregando celobiose e lactose como substratos e mensurando a redução de 2,6-diclorofenolindofenol (DCPIP). Além disso, medimos a produção de peróxido de hidrogênio usando uma reação com o reagente Amplex® Red e peroxidase de rábano (HRP). Obtivemos resultados preliminares, com pH e temperatura ótimos de 6 e 60 ° C, respectivamente, com preferência pela lactose em relação à celobiose como substrato. Nossas perspectivas são de usar esta enzima versátil em aplicações biotecnológicas que vão de redutases de LMPOs a agentes antimicrobianos e antibiofilmes.

Palavras-chave: Oxienzimas. Celobiose desidrogenase. *Pichia pastoris*.

Referências:

1 SCHEIBLBRANDNER, S.; LUDWIG, R. Cellobiose dehydrogenase: bioelectrochemical insights and applications. **Bioelectrochemistry**, v. 131, p. 107345-1-107345-22, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2019.107345>.

2 TAN, T.-C. *et al.* Structural basis for cellobiose dehydrogenase action during oxidative cellulose degradation. **Nature Communications**, v. 6, p. 7542-1-7542-11, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms8542>.

3 KARBALAEI, M. *et al.* *Pichia pastoris*: a highly successful expression system for optimal synthesis of heterologous proteins. **Journal of Cellular Physiology**, v. 235, n. 9, p. 5867-5881, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.29583>.