

# Construção de levedura *Saccharomyces cerevisiae* capaz de fermentar xilose para produção de etanol

Samara B. Carvalho<sup>1</sup>, Paula F. Franco<sup>1</sup>, João R.M. Almeida<sup>1</sup>

## Introdução

Devido à demanda brasileira e mundial por novas fontes de combustíveis renováveis vários estudos são feitos para a produção de etanol a partir de biomassa lignocelulósica (STAMBUK et al, 2008). O desenvolvimento de linhagens microbianas para a produção de etanol lignocelulósico torna-se necessário para melhor aproveitamento dos resíduos agroindustriais e de lixo urbano. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* não é naturalmente capaz de fermentar a pentose xilose, portanto a fermentação dos açúcares presentes em hidrolisados de biomassa por essa levedura restringe-se às hexoses (ALMEIDA et al., 2011; GEDDES et al., 2011). Como a xilose representa grande parte dos açúcares presentes em hidrolisados de biomassa, linhagens recombinantes de *S. cerevisiae* capazes de convertê-la a etanol vem sendo construídas pela superexpressão da via catabólica de xilose nessa levedura.

O objetivo desse trabalho é a construção de uma linhagem de *S. cerevisiae* capaz de fermentar xilose a etanol. Para tanto, os genes codificantes para xilose reductase (XR) e xilitol desidrogenase (XDH) de *Scheffersomyces stipitis*, e xilulokinase (XK) de *S. cerevisiae* serão expressos em linhagem laboratorial dessa levedura.

## Métodos

A levedura *S. cerevisiae* capaz de fermentar xilose foi construída utilizando a via de assimilação de xilose composta de xilose reductase (XR) e xilitol desidrogenase (XDH) de *S. stipitis*. A enzima xilulokinase (XK) endógena de *S. cerevisiae* também foi superexpressa. Inicialmente, os cassetes de expressão para XR e XK foram obtidos pela digestão com *Xba*I e *Xho*I dos vetores pRH185 e pRH195, respectivamente (HECTOR et al., 2011). Para construção do cassete de expressão para XDH, o gene *Xil2* foi amplificado a partir do DNA genômico de *S. stipitis* com oligonucleotídeos específicos. Posteriormente, o gene foi clonado no vetor p426-TEF sob regulação do promotor TEF e terminador *CYC1*, gerando o plasmídeo p426-XDH. Finalmente, este plasmídeo foi linearizado com a enzima *Sac*I e os

<sup>1</sup> Embrapa Agroenergia, PqEB, Av. W3 Norte (final), Brasília/DF, Brasil, 70770-901  
joao.almeida@embrapa.br

cassetes de expressão para XR e XDH previamente obtidos foram ligados a este. O vetor resultante, p426-XR-XDH-XK foi utilizado para transformação de *S. cerevisiae* CEN.PK.

## Resultados e Conclusões

O plasmídeo episomal p426-XR-XDH-XK contendo cassetes de expressão para XR, XDH e XK foi construído com sucesso. Linhagem recombinante de *S. cerevisiae* foi obtida após transformação com esse plasmídeo. A linhagem foi capaz de crescer em meio mínimo contendo xilose como única fonte de carbono, demonstrando a correta expressão dos genes. Avaliações das taxas de crescimento e perfil fermentativo da linhagem confirmaram a capacidade de utilização de xilose pela linhagem, porém a taxas foram uma ordem de magnitude abaixo das observadas para glicose. Utilização de estratégias de evolução adaptativa serão aplicadas na linhagem para melhorar seu consumo de xilose.

## Apoio Financeiro

Embrapa agroenergia.

## Referências

- ALMEIDA, J. R. M.; RUNQUIST, D.; NOGUE, V. S. I.; LIDEN, G.; GORWA-GRAUSLUND, M. F. Stress-related challenges in pentose fermentation to thanol by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology Journal**, Weinheim, v. 6, n. 3, p. 286-299, 2011.
- GEDDES, C. C.; NIEVES, I. U.; INGRAM, L. O. Advances in ethanol production. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 22, n. 3, p. 312-319, 2011.
- HECTOR, R. E.; DIEN, B. S.; COTTA, M. A.; QURESHI, N. Engineering industrial *Saccharomyces cerevisiae* strains for xylose fermentation and comparison for switchgrass conversion. **Journal of Industrial Microbiology**, Hampshire, v. 38, n. 9, p. 1193-1202, 2011.
- STAMBUK, B. U.; ELEUTHERIO, E. C. A.; FLOREZ-PARDO, L. M.; SOUTO-MAIOR, A. M.; BON, E. P. S. Brazilian potential for biomass ethanol: challenge of using hexose and pentose cofermenting yeast strains. **Journal of Scientific and Industrial Research**, New Delhi, v. 67, n. 11, p. 918-926, 2008.