

Produção de uma β -expansina de cana-de-açúcar por *Komagataella phaffii*

Jéssica de Sá Guimarães Peixoto¹, Kelly Barreto Rodrigues², Gisele Soares Menino³,
Thais Demarchi Mendes⁴, Helder Andrey Rocha Gomes⁵, Renan Stefanini Lopes⁶, Sílvia
Belém Gonçalves⁷, Fabrício Machado Silva⁸, Léia Cecília de Lima Fávoro⁹

Resumo

As expansinas são proteínas descobertas em plantas e atuam principalmente em processos relacionados às modificações da parede celular vegetal. Essas proteínas atuam no rompimento das ligações não covalentes entre as microfibrilas de celulose, por um mecanismo não enzimático, levando ao afrouxamento e extensão da celulose. Isso facilita o acesso das enzimas lignocelulolíticas à molécula de celulose, aumentando a eficiência da sacarificação enzimática de biomassa lignocelulósica. Devido a essa característica, as expansinas têm sido investigadas quanto à sua aplicação como aditivo em coquetéis enzimáticos para desconstrução de lignocelulose. O genoma da cana-de-açúcar apresenta mais de 90 genes codificadores de expansinas, com expressão gênica diferencial dependendo do tecido e idade das plantas. Estudos anteriores de nosso grupo de pesquisa identificaram genes de expansinas com expressão preferencial em colmos e folhas de plantas de diferentes idades. Nesse contexto, foi levantada a hipótese de que as próprias expansinas de cana-de-açúcar poderiam ser utilizadas como aditivo para desconstrução dessa biomassa. Assim, este trabalho teve por objetivo produzir heterologicamente expansinas de cana-de-açúcar previamente identificadas como preferencialmente expressas em colmos adultos. Quatro expansinas candidatas foram selecionadas para produção por *Komagataella phaffii* (linhagem X-33) e para caracterização bioquímica. Os quatro genes de expansinas foram comercialmente sintetizados nos vetores de expressão pGAPZB e pPICZB. Dentre os genes sintetizados, uma β -expansina de cana-de-açúcar foi produzida com sucesso em *K. phaffii* utilizando tanto o vetor pGAPZB quanto o vetor pPICZB. A β -expansina clonada em pPICZB foi submetida a análise funcional por meio de ensaio de ligação à celulose do tipo Avicel PH-101. Os resultados preliminares mostraram que a β -expansina de cana-de-açúcar foi produzida na sua forma funcional, pois foi capaz de se ligar à celulose do tipo Avicel, e que tal procedimento pode ser utilizado para purificação da proteína a partir do sobrenadante do cultivo de *K. phaffii*. Outros ensaios de caracterização bioquímica e funcional estão em andamento. A obtenção de expansinas de cana-de-açúcar heterólogas é inédita e sua caracterização pode contribuir para aprimorar a aplicação biotecnológica das expansinas.

Auxílio Financeiro: Capes, Embrapa (SEG 02.12.11.003.0000).

Palavras-chave: cana-de-açúcar. β -expansina. expressão heteróloga. *Komagataella phaffii*.

¹ Bióloga, doutoranda em Tecnologias Química e Biológica, Universidade de Brasília, jessica.peixoto@colaborador.embrapa.br.

² Bióloga, doutora em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, kelly.rodrigues@colaborador.embrapa.br.

³ Bióloga, mestre em Microbiologia, Universidade de Brasília, gisele.soares@colaborador.embrapa.br.

⁴ Bióloga, mestre em Microbiologia Aplicada, Analista da Embrapa Agroenergia, thais.demarchi@colaborador.embrapa.br.

⁵ Biólogo, doutor em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, helder.gomes@colaborador.embrapa.br.

⁶ Biólogo, mestre em Tecnologias Química e Biológica, Universidade de Brasília, renansl@hotmail.com.

⁷ Engenheira química, doutora em Engenharia Química, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, silvia.belem@embrapa.br.

⁸ Engenheiro químico, doutor em Engenharia Química, Universidade de Brasília, fmachado@unb.br.

⁹ Bióloga, doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, leia.favaro@embrapa.br.