Projeto de Iniciação Científica – Programa PIBIC

Modificação genética de micro-organismos para desconstrução de polímeros não naturais

Pesquisador Responsável: Dr. Mario Murakami/Dra. Thamy Corrêa

Instituição sede: Laboratório Nacional de Biorrenováveis (LNBR); Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM)

Introdução e estado da arte

Polímeros, macromoléculas obtidas a partir da ligação química entre unidades repetitivas, são subdivididos em naturais e não naturais. Polímeros naturais como DNA, proteínas e carboidratos são inerentes aos seres vivos, enquanto os não naturais são sintetizados a partir de óleo, gás e carvão e incluem plásticos, resinas, géis e aditivos[1].

Polímeros não naturais são extensamente aplicados nas indústrias de alimentos, agricultura, saúde, transportes, têxtil, cosméticos e eletrônicos, contribuindo para um estilo de vida mais prático e econômico. Esses compostos são altamente duráveis e resistentes devido à cristalinidade, heterogeneidade e insolubilidade que apresentam, o que confere estabilidade e recalcitrância à atuação de enzimas e favorecem o seu acúmulo no meio ambiente quando descartados[2].

A desconstrução biológica/enzimática de polímeros naturais como a celulose, principal componente da parede celular vegetal, encontra-se bem estabelecida atualmente[3]. O mesmo não ocorre para polímeros não naturais cujos primeiros relatos acerca de enzimas ativas sobre esse material datam de 30-40 anos atrás[4]. Por exemplo, a modificação da superfície do termoplástico polietileno tereftalato (PET) foi inicialmente notada a partir de enzimas ativas em polímeros não relacionados como as cutinases. Apenas em 2016 um sistema de desconstrução enzimática de PET pela bactéria *Ideonella sakaiensis* foi proposto[5]. Tais descobertas fomentam o desenvolvimento da

economia circular do plástico onde o PET utilizado pode ser desconstruído em suas unidades fundamentais e reutilizado para geração de novo material com as mesmas características prévias[5].

Tendo em vista a diversidade de ligações químicas encontradas em diferentes polímeros não naturais, assume-se que enzimas com diferentes especificidades são requeridas para sua desconstrução. Nesse sentido, micro-organismos constituem um reservatório de proteínas inexploradas, revelando-se uma fonte profícua para novas descobertas e aplicações.

Objetivo

O projeto objetiva a seleção de enzimas e construção de uma linhagem microbiana para expressão de coquetel enzimático para desconstrução de polímeros não naturais.

Metodologia

O aluno a ser selecionado executará os seguintes experimentos a fim de atingir o objetivo proposto:

- Seleção de enzimas por ferramentas de bioinformática;
- Clonagem e expressão de enzimas por organismos procariotos;
- Purificação de enzimas por diferentes estratégias;
- Ensaios bioquímicos e de microscopia para detecção de atividade enzimática;
- Construção de vetores e modificação genética de organismos eucariotos pela estratégia de CRISPR/Cas9;
- Ensaios de aplicação do coquetel enzimático para desconstrução de polímeros não naturais.

Referências

[1] Chen et al. Enzymatic degradation of plant biomass and synthetic polymers. Nature Reviews Chemistry, 2020;

[2] Navarro et al. Large-scale phenotyping of 1,000 fungal strains for the degradation of non-natural, industrial compounds. Research Square, 2021;

[3] Chettri et al. Innovations in CAZyme gene diversity and its modification for biorefinery applications. Biotechnology Reports, 2020;

[4] Mueller et al. Biological degradation of synthetic polyesters – Enzymes as potential catalysts for polyester recycling. Process Biochemistry, 2006;

[5] Yoshida et al. A bacterium that degrades and assimilates poly (ethylene terephthalate). Science, 2016;