

**EXPANSÃO DA RESISTÊNCIA À ACIDEZ EM *Pseudomonas putida*
UTILIZANDO COMBINAÇÕES DE GENES DE ORIGEM METAGENÔMICA**

ORDINE, João Vitor Wagner^{1*}; MODA, Caroline Moncaio^{1**}; DE SIQUEIRA,
Guilherme Marcelino Viana²; GUAZZARONI, Maria Eugenia^{1***}.

RESUMO

Introdução: Ácidos orgânicos são utilizados comumente no cotidiano da população, porém um problema encontrado durante sua produção é a redução considerável do pH da batelada. Classicamente, isso é contornado com a adição de bases, para manter o pH tolerável para os microrganismos. Todavia, a escolha de linhagens ácido-tolerantes para processos que ocorrem em baixo pH, como a produção de ácidos orgânicos, é uma excelente alternativa à neutralização do meio, por reduzir o consumo de bases para controle de pH, reduzindo o impacto ambiental e o custo de processamento *downstream*.

Objetivo: Transformar e testar a linhagem de *Pseudomonas putida* KT2440 com 5 circuitos sintéticos, que permitem a diferente expressão de 3 proteínas heterólogas, de origem metagenômica. **Material e métodos:** A cepa de *P. putida* com o vetor pSEVA232 vazio foi cultivada e teve seu crescimento em diferentes condições ácidas medido. Posteriormente, a cepa bacteriana sem plasmídeo foi transformada com (I) os circuitos sintéticos pARC111 e (II) pARC211, (III) gene isolado *hu*, (IV) *clpP* e (V) *rbp* e, após plaquemanto e inoculação destas, seu crescimento em diferentes condições ácidas foi medido também. **Resultados:** (I) em pH 7, todas as cepas possuíam crescimento similar ao controle negativo (células contendo o pSEVA vazio), com exceção daquelas que abrigavam o gene isolado *rbp*, as quais possuem fase exponencial mais acentuada; (II) em pH 5, as cepas contendo pARC111 e pARC211 tiveram um crescimento reduzido, o que poderia ser ocasionado por um fardo metabólico decorrente da expressão heteróloga; (III) em pH 4, as cepas contendo pARC111, pARC211 e o gene isolado *hu* possuíam uma fase exponencial mais acentuada do que as demais. **Conclusão:** Os circuitos sintéticos e os genes de resistência à acidez poderiam ser responsáveis por causar a ativação de vias responsivas ao estresse, levando a um aumento da resistência à acidez, porém melhores padronizações metodológicas devem ser utilizadas para confirmação.

Palavras-chave: microrganismos, circuitos sintéticos, ácidos orgânicos, resistência à acidez.

¹ Departamento de Biologia, FFCLRP, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.

*joaoordine@usp.br; **carolinemoda@usp.br; ***meguazzaroni@ffclrp.usp.br.

² Departamento de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos, FMRP, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. viana.guilherme@usp.br