



II CONGRESSO PARANAENSE DE MICROBIOLOGIA

EVENTO SIMULTÂNEO:
SIMPÓSIO SUL-AMERICANO DE MICROBIOLOGIA AMBIENTAL

EFEITO DA SOBRECARGA METABÓLICA PLASMIDEAL NA VELOCIDADE DE CRESCIMENTO E DE CONSUMO DE OXIGÊNIO EM *Escherichia coli*.

^{1,2}Marconi, M*; ^{1,2}Marteletto, N; ^{1,2}Marques, T. M; ^{1,2}Mello, C. M.; ²Oliveira V.; ²Linhares D.C.; ²Rodrigues, M.F.A.; ²Piccoli, R; ²Léo, P.

¹Programa Interunidades em Biotecnologia ICB/Butantan/IPT, Universidade de São Paulo.

²Laboratório de Biotecnologia Industrial, Núcleo de Bionanomanufatura, Instituto de Pesquisas Tecnológicas, São Paulo, Brasil. *e-mail: mmarconi@ipt.br

Os plasmídeos são ferramentas importantes na expressão de proteínas heterólogas em microrganismos, e os mecanismos que controlam sua replicação geralmente estão associados a grupos de genes que se localizam no próprio DNA plasmideal, o plasmídeo pUC é um plasmídeo de alta cópia (~500 plasmídeos/célula) e está associado a expressão de proteínas recombinantes não tóxicas em *Escherichia coli*. Plasmídeos deste tipo apresentam uma alta produção de proteínas recombinantes, no entanto, sua presença em alta cópia pode promover uma sobrecarga metabólica e consequentemente debilitar o metabolismo do microrganismo. Este tipo de estresse celular pode comprometer a cinética de crescimento, a estabilidade do próprio plasmídeo bem como a produtividade da proteína de interesse. O presente trabalho mostra alterações na velocidade de crescimento e no padrão de consumo de oxigênio pelo microrganismo *Escherichia coli* transformadas com plasmídeos pUC. Experimentos foram conduzidos em biorreatores simultaneamente utilizando a cepa BL21(DE3) transformada com plasmídeos de alta cópia pUC, contendo promotor T7 induzido por IPTG e resistente a canamicina, e cepa BL21(DE3) não transformada como grupo controle. As duas linhagens foram submetidas a crescimento em biorreatores de 10 Litros mecanicamente agitados sob a mesma temperatura (37°C) e conduzidos em batelada alimentada. A velocidades máxima de crescimento ($\mu_{X_{máx}}$) da linhagem transformada com pUC foi inferior a linhagem controle ($\mu_{X_{máx [pUC]}} = 0,502 \text{ h}^{-1}$; $R^2 = 0,999$ e $\mu_{X_{máx [Controle]}} = 0,621 \text{ h}^{-1}$; $R^2 = 0,997$). Os dados da velocidade específica de consumo de oxigênio ao longo do tempo (qO_2) mostram que a cepa transformada com pUC apresentou uma maior velocidade de consumo de oxigênio ($qO_{2[pUC]} \cong 0,35 \text{ h}^{-1}$) quando comparado à cepa não transformada ($qO_{2[Controle]} \cong 0,16 \text{ h}^{-1}$) na fase de limitação pelo substrato. Estes resultados indicam alterações no padrão metabólico dos microrganismos, possivelmente nas vias de respiração e fermentação. Alterações nestas vias metabólicas podem prejudicar o ensaio em biorreator, dificultando a obtenção de uma concentração celular elevada e aumentando as chances de produção de acetatos como produto da fermentação, limitando ainda mais o crescimento celular e consequentemente a produção da proteína recombinante de interesse.

Palavras-chaves: pUC, sobrecarga metabólica, $\mu_{X_{máx}}$, qO_2

Suporte financeiro: BNDES

Área de conhecimento: Microbiologia Industrial/Biotecnológica