



UNIVERSIDADE  
E COMUNIDADE  
EM CONEXÃO



**XIII FINOVA**

6 a 10 de novembro

<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2023: FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DA UFRGS - FINOVA
<b>Ano</b>	2023
<b>Local</b>	Campus Centro - UFRGS
<b>Título</b>	Uso do sistema CRISPR-Cas9 para edição de genes associados a produção da enzima $\beta$ -liase em <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<b>Autor</b>	SOFIA TURATTI DOS SANTOS
<b>Orientador</b>	DIEGO BONATTO

**TÍTULO DO PROJETO: Uso do sistema CRISPR-Cas9 para edição de genes associados a produção da enzima  $\beta$ -liase em *Saccharomyces cerevisiae***

Aluno: Sofia Turatti dos Santos

Orientador: Diego Bonatto

**RESUMO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS PELO BOLSISTA**

O sistema CRISPR/Cas é uma técnica de edição gênica que vem ganhando cada vez mais espaço devido a sua alta especificidade e aplicações em diferentes campos. Na biotecnologia de microrganismos, o sistema CRISPR/Cas tem sido usado para o melhoramento de leveduras industriais para diferentes propósitos, como produção aumentada de moléculas organossensoriais. O gene *IRC7*, presente em algumas espécies do gênero *Saccharomyces*, codifica para uma enzima chamada  $\beta$ -liase que atua produzindo tióis, moléculas de interesse na produção de cervejas. Por sua vez, o gene *URE2*, também presente nas leveduras, está associado à regulação transcricional do gene *IRC7*. De maneira geral, as cepas cervejeiras de *Saccharomyces cerevisiae* perderam a capacidade de produzir  $\beta$ -liase por possuírem uma versão curta do gene *IRC7* com deleção de vários pares de bases e codificando para uma isoforma não funcional. Com isso, o objetivo deste trabalho é gerar cepas de *S. cerevisiae* editadas por CRISPR-Cas9 e que possuam a capacidade de expressar a forma funcional da  $\beta$ -liase para a produção de cervejas aromáticas. Para tanto, as cepas laboratoriais BY4741 e BY4742 foram transformadas com o vetor pUDP004, que codifica para Cas9, e contendo as sequências para gRNAs de *IRC7* e *URE2*. Também foi gerado o vetor pUDP004 para a expressão multiplex de ambos os gRNAs e possibilitar a edição simultânea das sequências *URE2* e *IRC7*. Para realizar a troca alélica das sequências *IRC7* e *URE2*, os respectivos DNA moldes foram amplificados por PCR e transformados juntamente com o vetor pUDP004. No momento o projeto se encontra na etapa de confirmação da edição, que se dará por meio de extração do genoma da levedura seguido de PCR ou PCR diretamente da colônia de levedura e avaliação dos produtos de edição.