



B0374

DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE TRANSFORMAÇÃO INTEGRATIVO EM PROPIONIBACTERIUM SSP.

Beatriz Leite Magalhães (Bolsista FAPESP), Maria Carolina de Barros Grassi (Co-orientadora) e Prof. Dr. Gonçalo Amarante Guimarães Pereira (Orientador), Instituto de Biologia - IB, UNICAMP

Atualmente, um grande desafio é desenvolver novas tecnologias para lidar com o fim iminente da era do petróleo. Para a produção de *commodities* químicas a partir de fontes renováveis, destaca-se como um possível intermediário o ácido propiônico, cuja produção ocorre via fermentação por espécies de propionibactéria, como por exemplo, *Propionibacterium acidipropionici*. No entanto, a produção fermentativa tem um rendimento baixo em comparação a síntese química. Logo, visando o aperfeiçoamento do processo fermentativo é de extrema importância o desenvolvimento de estudos metabólicos e genéticos de propionibactérias. O objetivo deste estudo é desenvolver um sistema de transformação integrativo para *P. acidipropionici* utilizando como marcador de seleção o gene *pyrF*. Este codifica uma enzima na via de produção de pirimidina e age sobre o ácido 5'-fluoro orótico (FOA) produzindo um composto tóxico para a bactéria. Para obter mutantes de *P. acidipropionici* para o gene *pyrF* foi construído o plasmídeo pBKtpf1. Este contém parte dos plasmídeos pRGO1 e pUC18, uma região de homologia de 1000pb *downstream* e *upstream* ao gene *pyrF* e o gene de resistência a tiostrepton - controlado pelo promotor e terminador do gene metilmalonil-CoA transcarboxilase de *P. acidipropionici*. A inserção do pBKtpf1 na bactéria está sendo feita por eletroporação e leva a deleção do gene *pyrF* por recombinação homóloga, gerando células auxotróficas para uracil e resistentes a 5-FOA. Logo, obtém-se a confirmação de transformantes quando as células são crescidas em meio contendo 5-FOA e tiostrepton.

Transformação integrativa - *Propionibacterium ssp.* - *PyrF*