



## PROPOSIÇÃO DE UMA NOVA FITASE POR ANÁLISES DE BIOINFORMÁTICA PARA PRODUÇÃO HETERÓLOGA VISANDO SUA APLICAÇÃO EM RAÇÕES PARA MONOGÁSTRICOS

Mateus Vicente Eugênio de Paiva – Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular

Monique Renon Eller – Departamento de Tecnologia de Alimentos

Universidade Federal de Viçosa

Fitase – Monogástricos – Bioinformática - Modelagem

### Introdução

O ácido fítico é uma molécula ubíqua em vegetais e, conseqüentemente, a principal fonte de fosfato em rações fornecidas a animais, além de ser um fator antinutricional. Entretanto, animais monogástricos, como suínos e aves, não sintetizam fitases, tornando necessária a adição desta enzima às rações para hidrólise do ácido fítico e absorção do fosfato pelo animal. Uso de ferramentas de Bioinformática e sequências de fitases já elucidadas e depositadas em bancos de dados permite a otimização de uma sequência que seja adequada para a aplicação em ração de animais monogástricos.

### Objetivos

Como a fitase é uma enzima importada de alto custo, sua produção por empresas nacionais poderá reduzir consideravelmente os custos de alimentação animal. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo produzir duas fitases visando a otimização dessas enzimas, tanto em bancada quanto em ensaios de bioinformática, para posterior aplicação na indústria animal.

### Material e Métodos

Na frente que envolvia a expressão heteróloga da fitase, usou-se meio de cultura BMMY com adição de metanol a cada 24 h para uma concentração final de 2 % v/v, durante 4 dias (120 h), com incubação a 30 °C sob agitação. Alíquotas desse meio era coletadas periodicamente para quantificar a quantidade de proteínas e a atividade de fitase no sobrenadante. Na frente de Bioinformática, foram compiladas mais de 50 sequências de fitases que foram alinhadas e agrupadas em clusters pelos softwares MEGA, Pymol e CD-Hit.

### Apoio Financeiro

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq  
Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG  
Agrocere

### Resultados e Discussão

Após construir as estruturas tridimensionais utilizando o servidor Phyre 2 e alinhá-las utilizando a ferramenta PyMOL, ainda se faz necessária uma simulação de dinâmica molecular para compreender a flexibilidade molecular das estruturas tridimensionais geradas, associando-a às características bioquímicas de cada enzima. Dessa forma, será possível observar sítios para potenciais mutações, em especial na criação de pontes de dissulfeto (S-S), para estabilização molecular. Os modelos mutantes gerados serão testados *in silico* para proposição de uma nova sequência de fitase ainda mais estável que possa ser aplicada industrialmente.

### Conclusões

A fitase tem sido produzida, mas a otimização da indução da expressão ainda é necessária para conseguirmos produzi-la em quantidade suficiente para os experimentos *in vivo*. A compra dos novos insumos para confecção dos meios de indução possivelmente resolverá essa questão. Em seguida, o desafio será produzir as enzimas em quantidade suficiente para os testes nos animais.

### Bibliografia

Tan H, et al. **Identification and characterization of a mesophilic phytase highly resilient to high-temperatures from a fungus-garden associated metagenome.** Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7097-9> Último acesso em 23 setembro 2021.

Helen M. Berman et al. **The Protein Data Bank**, *Nucleic Acids Research*, Volume 28, Issue 1, January 2000, Pages 235242, <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235> Último acesso em 23 setembro 2021.

Gary L. Peterson. **A simplified method for analysis of inorganic phosphate in the presence of interfering substances.** *Analytical Biochemistry*, Volume 84, Issue 1, 1978, Pages 164-172. Disponível em [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90495-5](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90495-5). Último acesso em 23 setembro 2021.

### Agradecimentos

Primeiramente agradeço às agências de fomento que possibilitaram a ocorrência desse projeto, e em segundo lugar agradeço ao excelente trabalho de orientação que recebi da professora dra. Monique Renon Eller e da doutoranda Elizabeth Epalanga Pires. A ajuda da co-orientadora, a professora dra. Valéria Monteze Guimarães e dos pesquisadores Pedro Vidigal e Marcelo Depólo também foram essenciais para a execução dessa pesquisa. Todo meu crescimento acadêmica e experiência adquiridos, agradeço a esses integrantes da equipe de trabalho.