



VII SIMPÓSIO DE BIOTECNOLOGIA

INTEGRAÇÃO ENTRE GRADUAÇÃO E PÓS-GRADUAÇÃO

III MOSTRA ACADÊMICA



Protocolo de purificação e refolding da lectina recombinante de *Bauhinia forficata*, visando sua atividade.

AMARAL, Diego S.^{1*}, SOUSA, Guilherme F.¹, CAMARGO, Laura¹, OLIVEIRA F, Ana¹, SEIXAS, Amilton¹, PINTO, Luciano Da S.¹

¹ Laboratório de Bioinformática e Proteômica, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil
*diegos.amaral@outlook.com

:

Área de submissão: Multidisciplinar

RESUMO

Lectinas são proteínas de origem não imune que possuem pelo menos um domínio não catalítico que se liga de forma reversível e específica à mono ou oligossacarídeos. Estando envolvidas em diversos processos biológicos, tais como sinalização celular e reconhecimento célula a célula. É um grupo heterogêneo de proteínas encontrado em plantas, animais e microrganismos que tem sido utilizada na inibição de fungos, bactérias, vírus e até mesmo de células tumorais. Desta forma a produção recombinante em sistemas heterólogos é uma maneira de se obter lectinas puras de sequencia definidas para diferentes aplicações biotecnológicas, nos últimos anos a lectina de *Bauhinia forficata* tem sido alvo de algumas destas pesquisas. Porém, sistemas a expressão em organismos simples nem sempre são tarefas fáceis já que muitas vezes a proteína pode ser produzida de forma insolúvel, dificultando sua utilização. Desta forma, neste trabalho procurou-se desenvolver um protocolo de purificação e remodelamento visando sua produção de forma ativa. Para isso, o gene da lectina foi clonado no vetor pAE e expresso em *Escherichia coli*. Após a caracterização da proteína recombinante por SDS_PAGE e Western Blotting foi realizada expressão em larga escala. Após a expressão procedeu-se a recuperação da proteína separando-se as frações solúveis e insolúveis. A presença da lectina foi constatada tanto na fração solúvel quanto na insolúvel e então a fração insolúvel foi submetidas à etapa de refolding durante a purificação utilizando uma coluna FF crude (cromatografia de afinidade) acoplada ao cromatografo AKTA purifier. A proteína recuperada após o processo de refolding foi dialisada exaustivamente em água e depois liofilizada. Sua atividade foi testada usando método padrão para garantir a integridade da proteína produzida. A produção recombinante desta proteína propicia sua utilização em diversos ensaios de atividade biológica, incluindo testes contra vírus, bactérias e células tumorais. Estes ensaios vão ajudar a desvendar os mecanismos biológicos complexos de glico-interações, trazendo as lectinas recombinantes para a vanguarda da glicobiologia.

PALAVRAS-CHAVE: Proteína heteróloga, antitumoral, BfLII, atividade biológica.