

ESTUDOS ESTRUTURAIS DA LECTINA DA ALGA MARINHA VERMELHA BRYOTHAMNION SEAFORTHII: EXPRESSÃO E ANÁLISE POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS.

Manoel Ferreira da Costa Filho, Maurilio Feijo de Sousa, Andressa Rocha de Oliveira Sousa, Renata Pinheiro Chaves, Alexandre Holanda Sampaio, Celso Shiniti Nagano

As lectinas constituem um grupo de proteínas ou glicoproteínas de origem não imune, que se ligam de forma específica e reversível a carboidratos. As interações proteína-carboidrato estão relacionadas com as atividades biológicas dessas moléculas, por isso, os estudos estruturais são importantes para elucidar a função e aplicabilidade de lectinas. A expressão de proteínas recombinantes é uma abordagem que permite a produção heteróloga desses compostos para produzir proteínas de forma pura e homogênea, apresentando uma caracterização mais precisa e um espectro mais amplo de aplicação. A lectina presente na alga marinha vermelha *Bryothamnion seaforthii* (BSL) possui massa molecular aparente de 9 kDa na presença e ausência de 2-mercaptoetanol, em SDS-PAGE, e em MALDI-MS apresenta cinco isoformas. BSL possui elevado potencial biotecnológico devido suas atividades pró-cicatrizantes, antinociceptiva, antibacteriana, anticâncer, anti-hiperglicêmica e antioxidante. O presente trabalho objetivou a expressão heteróloga de uma das isoformas (rBSL3) e análise da proteína recombinante por espectrometria de massas. O gene sintético foi inserido no vetor de expressão pET32a, contendo resistência à ampicilina, proteína de fusão tioredoxina e sítio para protease TEV. Os testes de expressão da proteína recombinante foram conduzidos em *Escherichia coli* BL21(DE3), submetidos a variações de temperatura (18 °C, 25 °C, 30 °C e 37 °C) com 0,05 mM de IPTG e analisadas por SDS-PAGE. Após a expressão, a banda mais evidente foi excisada do gel, digerida e avaliada por MS/MS. Na expressão, a lectina foi detectada na fração solúvel em todas as temperaturas testadas, e a análise por MS/MS confirmou a expressão da proteína de fusão-lectina de forma heteróloga. Desta forma, fomos capazes de produzir a rBSL na fração solúvel e passos posteriores para finalização do protocolo serão realizados. Apoio financeiro: UFC, CNPq, CAPES.

Palavras-chave: lectina. alga. proteína recombinante. espectrometria de massa.