

ESTUDOS ESTRUTURAIS DA LECTINA DOS OVOS DO OURIÇO-DO-MAR *ECHINOMETRA LUCUNTER*: EXPRESSÃO E ANÁLISE POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS.

Lais Mamede Aguiar Freire, Andressa Rocha de Oliveira Sousa, Renata Pinheiro Chaves, Rômulo Farias Carneiro, Alexandre Holanda Sampaio, Celso Shiniti Nagano

Lectinas são proteínas de origem não imune que apresentam ligação específica e reversível a carboidratos. A compreensão das interações proteína-carboidrato permite elucidar o papel fisiológico dessas moléculas, por isso, os estudos estruturais são de extrema importância. A expressão de proteínas recombinantes permite a produção heteróloga desses compostos, produzindo proteínas de forma homogênea e em larga escala para fins biotecnológicos. EEL é uma lectina presente nos ovos do ouriço-do-mar *Echinometra lucunter* com massa molecular estimada em SDS-PAGE de 22 kDa e 14 kDa na ausência e presença de 2-mercaptoetanol, respectivamente, demonstrando ser uma proteína dimérica. Em ESI-MS, a lectina apresenta duas isoformas, EEL-1 e EEL-2, com massa molecular monomérica determinada de 11.045 ± 2 Da e 11.643 ± 2 Da, respectivamente. EEL foi capaz de aglutinar bactérias, demonstrando seu potencial antibacteriano. O presente trabalho objetivou a expressão heteróloga de uma das isoformas (rEEL-1) 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 tiorredoxina e sítio para protease TEV. Os testes de expressão foram conduzidos em diferentes cepas de *Escherichia coli*: BL21(DE3), Rosetta-gami; Origami B(DE3)pLysS e ArcticExpress. Diferentes variações de temperatura (18°C , 25°C , 30°C e 37°C) e de concentração de IPTG (0,05; 0,1; 0,5 ou 1 mM) foram testadas 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 observada na fração insolúvel em todas as condições 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 rEEL, porém mais testes serão necessários para tornar a expressão ou proteína expressa na forma solúvel. Apoio financeiro: UFC, CNPq, CAPES.

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