

EXPRESSÃO HETERÓLOGA E CARACTERIZAÇÃO DA LECTINA DE CANAVALIA VIROSA EM ESCHERICHIA COLI

Leticia Alves Gomes, Messias Vital de Oliveira, Vinícius José da Silva Osterne, Benildo Sousa Cavada, Kyria Santiago do Nascimento

Lectinas são proteínas de ampla distribuição na natureza capazes de reconhecimento específico e reversível a carboidratos. Suas atividades biológicas fazem delas importantes ferramentas na pesquisa científica e biotecnológica. Com isso, expressar essas proteínas em sistemas heterólogos é importante para verificar modificações pós-traducionais e sobrepor as limitações na obtenção das lectinas a partir do material vegetal. Nesse contexto, esse projeto objetivou a expressão da lectina recombinante de Canavalia virosa (rConV) em Escherichia coli e comparação das propriedades físico-químicas e de ligação a carboidratos com a lectina do tipo selvagem obtidas de sementes. Para isso, o gene da lectina foi ligado ao vetor pET28a. O vetor recombinante foi utilizado para transformar cepas de E.coli BL21 (DE3) seguido de seleção de transformantes em meio LB sólido com canamicina. Os clones positivos foram inoculados em meio LB-Broth + canamicina. As condições de expressão consistiram na combinação a seguir: IPTG 1 mM como agente indutor, temperatura de 18 °C e 16 horas de indução. A lectina recombinante foi purificada a partir do extrato bacteriano em matriz de níquel imobilizado se aproveitando da cauda de histidina presente na proteína recombinante. Para isso, o extrato foi aplicado na matriz, as proteínas não retidas foram removidas e o pico retido foi eluído com imidazol. O pico referente às proteínas retidas foi submetido a atividade hemaglutinante e eletroforese em gel de poliacrilamida onde foi possível observar uma atividade positiva e a presença da banda referente a lectina. No entanto, o nível de expressão foi baixo e outras bandas proteicas foram verificadas no PAGE-SDS. Devido a isso, são necessários novos ensaios para otimizar a produção da lectina na forma ativa e solúvel além de aplicar técnicas de química de proteínas para atingir um maior nível de purificação da proteína recombinante. Por fim, agradeço ao CNPq, à UFC e ao BioMol-Lab pelo apoio a esta pesquisa.

Palavras-chave: Lectina. Purificação. Expressão recombinante. Caracterização.