



Simpósio de Integração Acadêmica

Inteligência Artificial: A Nova Fronteira da Ciência Brasileira
SIA UFV Virtual 2020



PADRONIZAÇÃO DA EXPRESSÃO HETERÓLOGA DO FATOR VII DE COAGULAÇÃO SANGUÍNEA HUMANO EM *Escherichia coli* E *Leishmania tarentolae* SELVAGEM E OTIMIZADA

Universidade Federal de Viçosa

Knop, G. L.¹; Mendes, T. A. O.²; Senra, R. L.³; Schittino, L. M. P.¹; Ribon, A. O. B.²; Fietto, J. L. R.²; Fiuza, J. A.⁴

1. Discente do Curso de Bacharelado em Bioquímica da Universidade Federal de Viçosa. 2. Docente do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa. 3. Doutorando vinculado ao Programa de Pós Graduação em Bioquímica Aplicada da Universidade Federal de Viçosa. 4. Docente da Universidade Federal de Minas Gerais.

gabriele.knop@ufv.br | tiagoamendes@ufv.br | renato.senra@ufv.br | luana.schittino@ufv.br | abribon@ufv.br | jufietto@ufv.br | jacqueline.fiuza@fiocruz.br

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde | Área temática: Bioquímica | Grande área: Biotecnologia | Categoria: Pesquisa

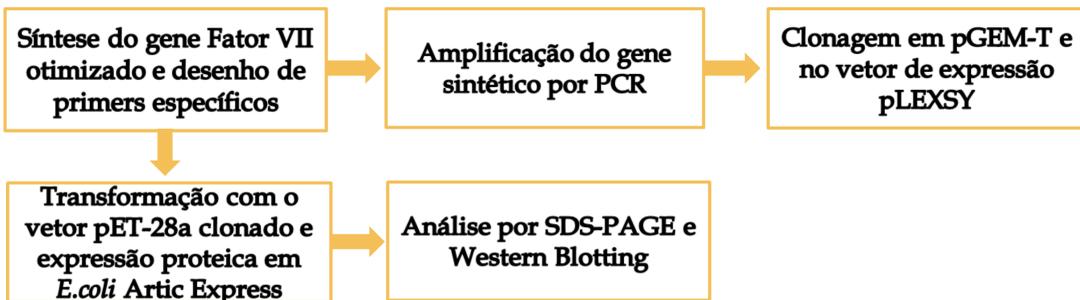
Introdução

A produção de glicoproteínas terapêuticas utiliza células dependentes de meios de cultivo complexos, caros e com baixos rendimentos, o que eleva os custos de produção. O protozoário tripanossomatídeo *Leishmania tarentolae*, parasito de lagartos, tem sido sugerido para expressão heteróloga de glicoproteínas, visto que é não patogênico para mamíferos e pode ser utilizado em produção de larga escala com custos reduzidos. Fatores como dobramento e modificações pós-traducionais de proteínas, tornam esse protozoário ainda mais vantajoso se comparado a bactérias e leveduras. O Fator VII de coagulação sanguínea é uma proteína terapêutica glicosilada cuja deficiência ou mau funcionamento pode ocasionar doenças como hemofilia.

Objetivos

O objetivo do projeto é desenvolver uma plataforma de expressão (com padrão de glicosilação específico de humanos) de baixo custo para produção de Fator VII utilizando linhagens de *Leishmania tarentolae* geneticamente otimizadas.

Material e Métodos



Resultados e Discussão

Observa-se eficiência na clonagem (Figura 1) e expressão proteica (Figura 2) em *Escherichia coli* e a clonagem do Fator VII em vetor de expressão pLEXY, característico de *Leishmania tarentolae*, está em fase de confirmação. Espera-se padronizar a expressão proteica e a purificação do Fator VII em *E. coli* e, posteriormente, também em *L. tarentolae*.

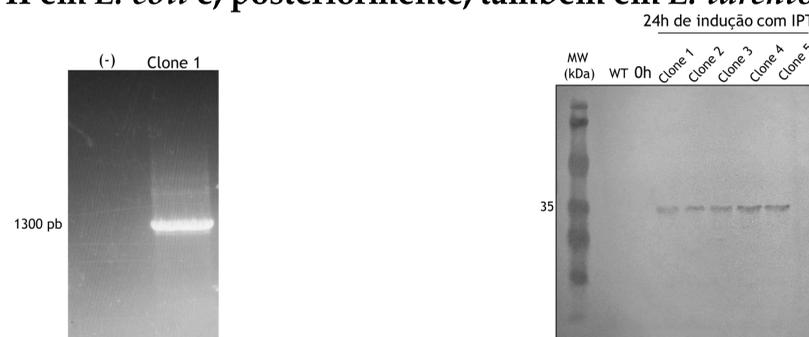


Figura 1: Amplificação do FVII clonado em pET-28a e transformado em *E. coli*.

Figura 2: Western Blotting de *E. coli* Arctic Express transformadas com 0h e 24h de indução com IPTG.

Conclusões

Por meio da metodologia apresentada pretende-se otimizar a expressão e purificação do Fator VII em *Escherichia coli* e *Leishmania tarentolae* visando testes de comparação de atividade, funcionalidade e uso terapêutico, visando a redução dos custos de produção e, consequentemente, o barateamento de medicamentos que têm como base essa proteína.

Bibliografia

GERNGROSS, T. U. Advances in the production of human therapeutic proteins in yeasts and filamentous fungi. *Nature biotechnology*, v. 22, p. 1409-1414, 2004.
RAYMOND, F. *et al.* Genome sequencing of the lizard parasite *Leishmania tarentolae* reveals loss of genes associated to the intracellular stage of human pathogenic species. *Nucleic Acids Research*, v. 40, p. 1131-1147, 2012.

Apoio Financeiro



Agradecimentos

