

Expressão Recombinante do Peptídeo Antimicrobiano e Quelante de Cobre Microplusina, Contendo Modificações em suas Extremidades Amino- e Carboxi-terminais

Iris de Araujo¹, Júlia Lima¹, Marcia Aparecida Sperança¹, Luciano Puzer¹, Sirlei Daffre², Jose Ricardo Murari Pires³ e Fernanda Dias da Silva¹

¹Universidade Federal do ABC – Centro de Ciências Naturais e Humanas
Santo André - SP – CEP 09210-580 – E-mail: irisdearaujo@aluno.ufabc.edu.br

²Universidade de São Paulo – Instituto de Ciências Biomédicas - Departamento de Parasitologia
São Paulo - SP – CEP 05508-000

³Universidade Federal do Rio de Janeiro – Instituto de Bioquímica Médica
Rio de Janeiro - RJ – CEP 21941-901

Introdução: A microplusina é um peptídeo antimicrobiano quelante de cobre e ferro ativo contra bactérias Gram-positivas e fungos. Também possui atividade pró-inflamatória contra macrófagos murinos. Estudos indicam que sua atividade antimicrobiana está relacionada à remoção do cobre do meio de cultura e que a depleção deste metal pode afetar importantes enzimas cobre-dependentes do metabolismo microbiano. Sua sequência primária é rica em histidinas, que junto com outros resíduos de aminoácidos, podem estar envolvidos na formação de seu sítio quelante de cobre. Estudos sobre a relação entre estrutura e atividade da microplusina tornam-se essenciais, a fim de se explorar o seu potencial terapêutico. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi padronizar a expressão recombinante de uma variante da microplusina, contendo remoção de aminoácidos, incluindo as histidinas presentes nas suas regiões amino- e carboxi-terminais. **Métodos:** O gene da variante da microplusina foi inserido no vetor de expressão pRSET A, utilizando-se as enzimas de restrição BamHI e EcoRI. A expressão foi realizada através da transformação de bactérias *E. coli* BL-21 com o plasmídeo recombinante, utilizando-se IPTG (0,8 mM) como agente indutor. Foram avaliados três protocolos (P1: Expressão em *E. coli* BL-21 DE3, a 37°C, densidade celular inicial (DO₆₀₀) entre 0,4 - 0,6 e 5 horas de indução; P2: *E. coli* BL-21 DE3, DO₆₀₀ ~1, a 24°C, 16 horas de indução; P3: similar a P1, porém utilizando-se *E. coli* BL-21 (DE3) pLysS). A expressão da molécula foi avaliada por SDS-PAGE 16%. **Resultados:** Entre os três protocolos testados, P1 foi o que apresentou expressão mais satisfatória do peptídeo e sua expressão foi detectada nas frações solúvel e insolúvel. Quanto a P2 e P3, não foi observada melhora no padrão de expressão. **Conclusões:** P1 apresentou-se como o melhor protocolo para expressão da variante da microplusina e será adotado para os próximos experimentos.

Agências de Fomento: Capes, FAPESP (2013/12338-6).

Palavras-chave: microplusina, peptídeo antimicrobiano, peptídeo quelante, expressão recombinante.