

## OTIMIZAÇÃO DE EXPRESSÃO DA PROTEÍNAS RECOMBINANTES BASEADAS NA ALFA TOXINA DE CLOSTRIDIUM NOVI

DARLEIDE DOS SANTOS BRAGA; LUIS ANDRÉ MORAIS MARIÚBA; MARIA EDILENE MARTINS ALMEIDA; ALEX CANGUSSU; MELLANIE CARMO FELIX

**Introdução:** A expressão de proteína recombinante é crucial na biotecnologia para produzir proteínas específicas com aplicações científicas e farmacêuticas. O *Clostridium novyi* é uma bactéria anaeróbica que possui a alfa toxina, uma proteína com potencial aplicativo devido às suas propriedades únicas. Em trabalhos anteriores desenvolvidos por nossa equipe foi produzida uma proteína recombinante baseada na alfa toxina e expressa em *E. coli*, apresentando, porém, baixo rendimento. **Objetivo:** Este trabalho teve como objetivo otimizar a expressão de uma proteína recombinante baseada na alfa toxina do *C. novyi*. **Materiais e Métodos:** O gene sintético utilizado foi obtido através da seleção de fragmentos imunogênicos identificados por bioinformática. Bactérias *Escherichia coli* BL21 (DE3) pLysS™ foram transformadas com plasmídeo pRSET contendo este gene. Após transformação, as células foram cultivadas em placas com LB ágar e indutores (IPTG, 1 mM e 0,1 mM final, e lactose, 10 g/L) em nas temperaturas de 22 e 37°C, por 3 e 16 horas. Após indução, as bactérias foram centrifugadas e sonicadas, seguido de análises utilizando a técnica SDS-PAGE e Western blot para confirmação da expressão. **Resultados:** Foi possível observar uma melhor expressão da proteína ao serem submetidas a expressão em temperatura de 22 °C, por 16 horas. A proteína recombinante estava presente na porção solúvel do lisado bacteriano. Não foi observado melhoramento na expressão nas demais condições testadas. Neste trabalho, a redução da temperatura de indução causou uma melhora direta na obtenção da proteína recombinante. Uma possível explicação seria que a redução da temperatura de indução leva a uma diminuição do metabolismo bacteriano, o que pode ter resultado na expressão mais estável dos epítopos da alfa toxina estudados. **Conclusão:** A alteração da temperatura de indução da proteína recombinante testada foi o principal fator observado para melhora da expressão desta.

**Palavras-chave:** *Clostridium novyi*, Expressão gênica, Engenharia genética, Alfa toxina, Epítopos.