



AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE EXPRESSÃO DA PROTEÍNA RECOMBINANTE KINT3-4 EM KOMAGATAELLA PHAFFII UTILIZANDO ÁCIDO ASCÓRBICO NO MEIO DE CULTURA

STEPHANY GONÇALVES DOS SANTOS; LETICIA GARCIA CARDOSO; IVAN CARLOS DOS SANTOS

INTRODUÇÃO: A biotecnologia desempenha papel crucial em diversas áreas devido à tecnologia de proteínas recombinantes. Essas proteínas oferecem produção consistente, alta pureza e personalização, apresentando vantagens significativas sobre fontes naturais. A levedura *Komagataella phaffii* é reconhecida como um hospedeiro ideal para expressão heteróloga devido a características distintas, como a capacidade de crescer em altas densidades (> 150 g/L) e a existência do promotor AOX1, fortemente reprimido na presença de glicose, glicerol ou etanol e totalmente induzido por metanol.

OBJETIVOS: Este estudo tem como objetivo avaliar o impacto da suplementação de ácido ascórbico nos níveis de expressão da proteína Kint3-4 em *K. phaffii*. O ácido ascórbico atua como antioxidante, reduzindo o estresse oxidativo, preservando a integridade celular e estabilizando as proteínas, atenuando os efeitos adversos do metanol e melhorando a eficiência da produção.

METODOLOGIA: Foi utilizada uma cepa recombinante de *K. phaffii* para expressar a proteína Kint3-4 sob o controle do promotor AOX1. As células foram pré-cultivadas em meio YPD e transferidas para meio BMGY. Durante a fase de indução (48 hs), realizado com a adição de metanol (100%) a cada 12 horas, ácido ascórbico (5, 10 e 20 mmol) foi adicionado 6 horas após cada indução com metanol. Observações microscópicas foram usadas para avaliar a integridade celular. A presença da proteína Kint3-4 foi confirmada por meio de eletroforese em gel de poliacrilamida e quantificada por dosagem de proteína utilizando o método de Bradford.

RESULTADOS: Os resultados demonstraram que o antioxidante aumentou a expressão da proteína Kint3-4 em até 10% quando utilizado 10 mmol de ácido ascórbico. Além disso, observou-se redução na formação de aglomerados de células de levedura nos grupos tratados com ácido ascórbico durante a fase de indução, o que indica um aumento da viabilidade celular.

CONCLUSÃO: Este estudo conclui que o ácido ascórbico, ao promover o aumento na expressão proteica, ao mesmo tempo em que mitiga os efeitos adversos associados ao metanol, representa um suplemento viável na otimização do processo de produção da proteína Kint3-4 em *K. phaffii*.

Palavras-chave: Proteínas recombinantes, ácido ascórbico, *Komagataella phaffii*, Expressão proteica, Metanol.