



Evento	Salão UFRGS 2024: SIC - XXXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2024
Local	Virtual
Título	Expressão recombinante de proteínas de ligação a ácidos nucleicos
Autor	LARISSA DE MENEZES CURTO
Orientador	ROGERIO MARGIS

Bolsista PIBIC/CNPQ: Larissa de Menezes Curto
Orientador: Prof. Dr. Rogério Margis
Trabalho vinculado ao projeto de Doutorado de Lara Macêdo
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS

Expressão recombinante de proteínas de ligação a ácidos nucleicos

Proteínas com capacidade de ligação a ácidos nucleicos (NABPs) estão envolvidas em diversos processos biológicos e apresentam potencial biotecnológico se utilizadas na entrega de RNAs de fita dupla (dsRNAs) a células vegetais. As NABPs podem funcionar como chaperonas e transportadoras de dsRNAs para as células alvo. Dentro da célula os dsRNAs serão clivados em pequenas moléculas de siRNA, estas têm papel importante na regulação gênica, especificamente no silenciamento de genes. A NABP estudada neste trabalho, pertence à família das KHs, possuindo dois domínios de ligação. Dado isso, foram expressas a proteína completa e os domínios amino e carboxi separadamente, todos contendo um CPP (peptídeo de penetração celular) na região N-terminal. Também, foi expresso isoladamente o domínio C-terminal sem a sequência CPP. Desta maneira será possível verificar a capacidade de se ligar a ácidos nucleicos da proteína completa e de seus domínios. Além disso, será possível verificar a efetividade da presença do CPP utilizado. O plasmídeo utilizado para expressar a proteína inteira foi sintetizado *in vitro* no plasmídeo pET-Duet. Este foi modificado posteriormente para expressar os domínios C- e N-terminais separadamente, bem como para expressar a proteína de interesse com e sem o CPP no N-terminal. Os clones obtidos foram checados por PCR de colônia e posteriormente os plasmídeos foram clonados em *E. coli* Rosetta. A síntese das proteínas foi feita por indução com IPTG. Após as induções, as células foram lisadas e as proteínas de interesse purificadas por cromatografia de afinidade IMAC (do inglês *immobilized metal affinity chromatography*), considerando que as proteínas recombinantes possuem uma sequência de oito histidina adicionadas ao C-terminal. A expressão e purificação das quatro proteínas foram verificadas em SDS-PAGE e quantificadas por Bradford.