



Evento	XXI FEIRA DE INICIAÇÃO À INOVAÇÃO E AO DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO – FINOVA/2012
Ano	2012
Local	Porto Alegre - RS
Título	Otimização da expressão da proteína acessória UreF de soja (Glycine max)
Autores	PATRÍCIA STEINER SPEROTTO RAFAEL REAL GUERRA
Orientador	CELIA REGINA RIBEIRO DA SILVA CARLINI

O vídeo iniciará com uma breve introdução sobre o crescimento das plantas, falando da importância do nitrogênio e de suas fontes, ressaltando a ureia e a enzima urease, que catalisa sua reação de degradação. Será mostrada a via de ativação da urease em soja (*Glycine max*), mostrando as proteínas acessórias envolvidas (UreD, UreF e UreG) e, ao final, pondo em foco a UreF. Na sequência, serão mostrados os procedimentos realizados para otimizar a produção de UreF de *G. max* em sistema recombinante, com o objetivo de obtê-la em quantidade suficiente para realizar sua caracterização bioquímica e estrutural. Para tanto, células de *Escherichia coli* da linhagem Rosetta2(DE3) foram transformadas com o vetor de expressão pET15b contendo o cDNA de UreF. As células recombinantes foram selecionadas por PCR, utilizando primers específicos para o gene de interesse. Estas células foram então utilizadas para a expressão da proteína recombinante. Diferentes temperaturas foram utilizadas para a expressão da proteína com IPTG como indutor. Alíquotas da cultura foram coletadas em diferentes intervalos de tempo, para posterior análise da expressão da proteína recombinante por SDS-PAGE. Estas análises estão em andamento. As culturas overnight foram utilizadas para purificação da proteína, através de cromatografia de afinidade por Ni²⁺. Como descrito para proteínas UreF de outros organismos, UreF de soja apresenta-se insolúvel em condições de superexpressão e, por isso, estratégias alternativas de purificação foram aplicadas. O lisado celular foi preparado na presença de 8 M de ureia e, durante a cromatografia, um gradiente decrescente de ureia foi utilizado para lavagem da coluna. Este processo visa a renaturação da proteína durante a cromatografia. A proteína, livre de ureia e renaturada, foi eluída com tampão contendo imidazol e analisada por SDS-PAGE. As melhores condições de expressão ainda estão sendo analisadas; no entanto, através do protocolo de purificação empregado neste trabalho, foi possível obter a proteína UreF intacta em sua forma solúvel, fato até então não obtido para este tipo de proteína. Uma vez analisadas as condições de temperatura e tempo de indução, outros fatores visando à otimização da expressão serão testados.

Apoio financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).