

A mamona (*Ricinus communis* L.) vem sendo amplamente explorada pelo seu óleo na indústria química e como matéria prima para biodiesel. Suas sementes apresentam 60% de seu peso em óleo, entretanto, contêm uma grande quantidade de proteínas tóxicas a animais. A ricina é uma Proteína Inativadora de Ribossomos (“Ribosome Inactivating Proteins” — RIP) e é a grande responsável pela alta toxicidade das sementes de mamona. Recentemente foi demonstrada, que além da atividade inativadora de ribossomos, a ricina também apresenta atividade lipolítica, sugerindo um papel na mobilização das reservas lipídicas da semente no desenvolvimento do embrião. Sabe-se que a proteína é constituída por duas cadeias, α e β , sendo que a primeira é responsável pela sua toxicidade e atividade lipolítica, e a segunda, por sua ligação com galactose (lectina). Quando a cadeia β liga-se em componentes contendo resíduos terminais de galactose da membrana, a ricina é capaz de entrar na célula via endocitose. Para avaliar de uma forma mais aprofundada sua atividade lipolítica, foi sintetizado um clone da ricina contendo substituições inativadoras nos aminoácidos responsáveis pela atividade RIP. Este clone está inserido em um vetor de expressão procariótico com a cadeia α ligada a GST-tag e β ligada à His-tag separadas por um sítio de clivagem proteolítica por enteroquinase. A metodologia baseia-se em expressar a proteína, de forma recombinante, em *Escherichia coli* e purificar separadamente as cadeias α e β para testar a atividade lipolítica destas contra substratos sintéticos. Até então, foram utilizadas duas linhagens de *E. coli* para expressar a proteína recombinante: BL21 (DE3) pLysS e BL21 Star (DE3). Nenhuma destas linhagens apresentou níveis satisfatórios de expressão. O próximo passo será utilizar duas novas linhagens de *E. coli*, BL21 (DE3) RP e BL21 Rosetta, e otimizar a expressão da proteína. Ao identificar as melhores condições para a expressão pretendemos realizar os procedimentos de purificação por cromatografia de afinidade e obtenção das subunidades α e β puras para os testes de atividade lipolítica.