



CLONAGEM DO GENE RECOMBINANTE DA ANEXINA A1 HUMANA EM VETORES PARA ESCHERICHIA COLI

Yan de Oliveira Laaf, Cleiton Alves de Oliveira, André Oliveira de Souza Lima

Bioquímica - Biologia Molecular

A Anexina A1 faz parte de uma superfamília de proteínas, conhecidas por possuírem uma alta afinidade a fosfolipídeos na presença de íons de cálcio. A A1, em específico, é uma enzima de 37 kDa importante no nosso organismo e desempenha papel de regulação e sinalização anti-inflamatória, sendo de grande interesse farmacêutico e alvo de diversos estudos. Devido à inexistência de um sistema heterólogo eficiente de produção da enzima, os custos para a obtenção da mesma são elevados, limitando a comercialização e seu uso em pesquisas. Este estudo tem como objetivo abrir as portas para sua produção através da clonagem do gene recombinante em células de *E. coli* de forma eficiente. Para tal, empregou-se técnicas de biologia sintética, molecular, engenharia genética e microbiologia. A sequência de nucleotídeos do gene ANXA1 foi obtida a partir de um banco de dados público (NCBI) e os códons foram otimizados a fim de melhorar a expressão, uma vez que organismos procariotos têm preferência por códons diferentes no momento de transcrição. A sequência resultante foi então sintetizada e subclonada no vetor pUC57 pela empresa MacroGen (Estados Unidos). O vetor foi inserido em células bacterianas por meio de transformação, utilizando-se de choque térmico. As colônias transformadas foram cultivadas em meio sólido *overnight* a 37°C, selecionando para as próximas etapas as colônias mais isoladas e com maior tamanho. A partir destas, foi feita a extração do vetor utilizando o QiaRep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Países Baixos) e a digestão, pelas enzimas XhoI e NdeI. A confirmação da presença da ANXA1, através da digestão, foi feita por eletroforese em gel de agarose (1,3%). A região de interesse no vetor que continha a ANXA1 foi então amplificada por PCR e ligado no vetor de expressão pET28a (+) através da DNA Ligase, sendo posteriormente inserido em células de expressão por meio de eletroporação. Por fim, as colônias resultantes foram repicadas e armazenadas em placas-mestras, ficando estas disponíveis para futuras pesquisas que venham a utilizar o gene ANXA1 recombinante. Como resultado deste estudo, obteve-se sucesso na transformação, digestão, amplificação, cultivo e crescimento de colônias contendo o gene ANXA1, carregado por dois vetores diferentes. Sendo assim, a partir da metodologia empregada e resultados apresentados, é possível inferir que a clonagem do gene da anexina A1 é viável mesmo usando vetores diferentes, abrindo assim as portas para que se crie um sistema heterólogo de expressão, aumentando o acesso a essa proteína.

Palavras-chave: Biofármacos; Atividade anti-inflamatória; Biologia sintética

XXII SEMINÁRIO
DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XI Mostra Científica de Integração
Pós-Graduação e Graduação

I Jornada de Tecnologia e Inovação

