

EXPRESSÃO HETERÓLOGA DO FATOR VII DE COAGULAÇÃO SANGUÍNEA EM *Leishmania tarentolae*

SCHITTINO, Luana Maria Pacheco¹; SENRA, Renato Lima²; KNOP, Gabriele Lopes³;
FIUZA, Jacqueline Araújo⁴; MENDES, Tiago Antônio Oliveira⁵;

RESUMO

Introdução: A glicoproteína Fator VII, está entre os fatores de coagulação dependentes da vitamina K e é essencial na inicialização da série de reações da cascata de coagulação sanguínea. Sua deficiência ou mau funcionamento pode acarretar em doenças como a hemofilia que atinge cerca de 12000 brasileiros. A produção industrial de glicoproteínas é um mercado crescente influenciado pelas limitações dos organismos utilizados no processo. O Fator VII enquadra-se neste caso por ser uma proteína majoritariamente produzida em células de mamíferos, entretanto, esse sistema de expressão apresenta alto custo e é pouco adaptável a indústria. Sendo uma proteína poliglicosilada, suas funções podem ser comprometidas quando produzida em organismos que não realizam modificações pós-traducionais, como bactérias. **Objetivo:** Produzir o fator VII não glicosilado em bactéria *E. coli* e comparar atividade com a proteína glicosilada produzida em *Leishmania tarentolae* otimizada para expressão de proteínas com padrão de glicosilação semelhante ao de humanos. **Material e métodos:** A sequência do gene correspondente ao Fator VII humano foi recuperada do banco de dados Uniprot e teve seus códons otimizados para o gênero *Leishmania* pela plataforma “IDT códon *optimization*”. O gene otimizado foi sintetizado em vetor de expressão bacteriano pET28-a. Foram feitos desenhos e síntese dos *primers* específicos para inserção do gene no vetor de expressão pLEXY em *Leishmania* utilizando enzimas de restrição. Fez-se a transformação bacteriana para a inserção do vetor pET28-a contendo o gene do Fator VII em *E. coli* que foi confirmada por reação em cadeia da polimerase (PCR). A expressão foi induzida por IPTG e confirmada por SDS-PAGE e Western-Blot. Em paralelo, fez-se a clonagem do gene em vetor pGEM-T *Easy* e após digestão, realizar-se-á a clonagem em vetor pLEXY para a transfecção e expressão em *L. tarentolae*. **Resultados:** A proteína alvo foi eficientemente produzida e purificada de bactéria e será utilizada como controle no teste de atividade comparativa com proteína glicosilada produzida em *Leishmania*. **Conclusão:** O protozoário em questão pode ser de fácil adaptação à produção industrial. A principal expectativa é que aumentando o volume de expressão de proteínas funcionalmente otimizadas, torne-se possível a diminuição de custos de medicamentos baseados em glicoproteínas.

Palavras-chave: Fator VII, *L. tarentolae*, clonagem, glicoproteína.

¹ Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. luana.schittino@ufv.br

² Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. renato.senra@ufv.br

³ Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. gabriele.knop@ufv.br

⁴ Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, Minas Gerais. jacqueline.fiuza@fiocruz.br

⁵ Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. tiagoaomendes@ufv.br