



## Expressão, purificação e caracterização de proteína antimicrobiana recombinante

Giovanna Mezzomo Pavanato<sup>1</sup>, Bruna Ferreira Leal (Co-autora), Renata Perotto de Souza (Co-autora), Carlos Alexandre S Ferreira (orientador)

*Escola de Ciências da Saúde e da Vida, Laboratório de Imunologia e Microbiologia, PUCRS,*

Tipo de bolsa: Programa BPA/PUCRS/2021

### Resumo

A resistência a antibióticos por parte de microorganismos de importância em saúde têm sido um desafio já por várias décadas em todo o mundo, tanto derivado de seu uso intensivo como pelo desenvolvimento relativamente pequeno de novas drogas. Em virtude da restrita oferta de novas moléculas com atividade antimicrobiana nas últimas décadas, novas estratégias de controle e tipos de moléculas têm sido estimuladas a serem prospectadas e otimizadas para o controle de microorganismos. Entre as alternativas avaliadas destacam-se os Peptídeos Antimicrobianos (AMPs), os quais estão presentes de forma ubíqua em todos os organismos estudados em maior extensão. Dentre os AMPs já descritos e utilizados clinicamente pode-se citar as polimixinas e a gramicidina. Em invertebrados, os AMPs são essenciais para as respostas imunes protetoras, além de poderem ser utilizadas na imunomodulação do sistema imune de vertebrados, sendo potenciais fontes para a procura de novas moléculas com potencial uso terapêutico. Proteínas ricas em glicina correspondem a um tipo de AMP classicamente presente em invertebrados. Em carrapatos, poucas proteínas ricas em glicina foram avaliadas como AMPs até o momento apesar de apresentarem um número muito elevado destas proteínas. Recentemente, o nosso grupo isolou um cDNA codificador para uma proteína rica em glicina (denominada RmGRP), presente na glândula salivar e potencialmente componente do cimento do carrapato *Rhipicephalus microplus*, a qual foi caracterizada parcialmente, incluindo o sequenciamento de ácidos nucleicos, clonagem, expressão em vetor procarioto, análise de sua expressão diferencial e antigenicidade. A estrutura e padrão de expressão tecidual da RmGRP são compatíveis com funções desempenhadas por AMPs. Desta forma, pretende-se caracterizar as atividades antimicrobianas desempenhadas pela versão recombinante da RmGRP (rRmGRP), com foco primário contra isolados de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina e *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenênicos, assim como contra cepas bacterianas de referência. Para isso, a rRmGRP será produzida e purificada, as cepas bacterianas serão cultivadas em caldo BHI a 37°C e avaliada sua curva de crescimento na ausência e presença da proteína em diferentes concentrações e tempos de cultivo. Até o momento, foi feita a purificação da proteína usando uma coluna de afinidade contendo níquel, e verificado seu grau de pureza através de SDS-Page e Western blot.

**Palavras-chave:** proteínas ricas em glicina; antimicrobianos; resistência a antibióticos.