



Ciências Exatas e da Terra

CLONAGEM, EXPRESSÃO E PURIFICAÇÃO DE UMA TIOREDOXINA E UMA TIOREDOXINA REDUTASE CITOSSÓLICA DE EMBRIÕES DO MOSQUITO AEDES AEGYPTI

Jhenifer Nascimento da Silva, Evenilto Pessoa Costa, Carlos Jorge Logullo de Oliveira

Introdução: O sistema Tioredoxina [Tioredoxina (Trx), Tioredoxina Redutase (TrxR) e o NADPH] é encontrado em todos os organismos vivos, participando do controle redox de muitos processos celulares como na regulação da apoptose, além de estar envolvido no sistema doador de elétrons na síntese de DNA. Atua também na defesa antioxidante e em processos reguladores dos níveis intracelulares de espécies reativas de oxigênio. A manutenção do estado reduzido dessas enzimas é importante já que esse sistema regula pelo menos 30 proteínas alvo. **Objetivos:** Neste projeto estamos estudando o sistema tioredoxina a fim de identificar as suas particularidades cinéticas e estruturais. Além disso, durante o desenvolvimento do embrião, acontecem muitas mudanças metabólicas as quais podem provocar um desequilíbrio redox. Desta forma, conhecer os principais momentos que o sistema tioredoxina está regulando as demais enzimas e fatores de transcrição durante o desenvolvimento do mosquito se faz importante ao passo que não há informações na literatura sobre esse sistema em artrópode. **Métodos:** Primers específicos foram desenhados para os fragmentos AaTrx e AaTrxR sendo amplificados por PCR, inseridos no vetor de clonagem e propagados em *E. coli*. Foram selecionados dois clones de cada construção os quais foram sequenciados três vezes para confirmar a integridade dos genes de interesse. A sequência de aminoácidos da AaTrx e da AaTrxR foram comparadas com as sequências de outros organismos obtidas no NCBI e Vector Base. O múltiplo alinhamento de sequências foi realizado usando o Bioedit v7.0. **Resultados e discussão:** A clonagem foi confirmada pelo sequenciamento e os fragmentos obtidos das AaTrx e da AaTrxR geraram regiões codificantes de 321 e 1491 pb, respectivamente. O cDNA da AaTrx codifica uma proteína de 106 aa, com massa molecular teórica de 12 kDa, o cDNA da AaTrxR codifica uma proteína de 497 aa, com massa molecular teórica 54 kDa. A análise filogenética demonstra a ampla distribuição da Trx e da TrxR entre os organismos, estando presente em organismos procariotos e eucariotos. A AaTrx e a AaTrxR aparecem na árvore filogenética agrupada no clado dos artrópodes. **Conclusão:** Até o presente momento realizamos a clonagem e conseguimos obter as sequências completa dessas duas enzimas com um alto grau de qualidade. Os próximos passos desse trabalho são: realizar a subclonagem da Trx e da TrxR no vetor de expressão, sequenciar e induzir a expressão das proteínas recombinantes.

Palavras-chave: Mosquito, Tioredoxina, Tioredoxina Redutase

Instituição de fomento: FAPERJ/CAPES/CNPq e INCT – Entomologia Molecular/UENF
Email: jheninascimento@yahoo.com.br