



Clonagem e superexpressão de uma tioredoxina citosólica de embriões de *Aedes aegypti*

Silva, J.N., Costa, E.P., Campos, E., Logullo, C.

O mosquito *Aedes aegypti* é um dos vetores da febre amarela e o principal vetor da dengue. Diversas estratégias de controle têm sido propostas baseadas na fisiologia deste mosquito. Recentemente foi demonstrado que existe uma dependência metabólica para o desenvolvimento embrionário desta espécie. Neste trabalho está se propondo um entendimento mais aprofundado da relação entre o metabolismo redox e energético nos embriões deste mosquito. Portanto, nosso grupo de pesquisa investiga o metabolismo redox durante o desenvolvimento embrionário do mosquito *A. aegypti* como uma alternativa para a identificação de enzimas que desempenham papéis críticos durante o desenvolvimento embrionário e, assim, estabelecer novos alvos moleculares para o desenvolvimento de drogas. A Tioredoxina (Trx) que é uma óxido-redutase encontrada em todos os organismos vivos e está entre os sistemas mais importantes de regulação redox da célula. Ela está envolvida na regulação de numerosos processos que dependem da troca tiol-dissulfeto, além de participar das defesas antioxidantes. O objetivo deste projeto é produzir a Tioredoxina recombinante em grande escala para realizar sua caracterização cinética e estrutural. Para tanto, o RNA total foi extraído de embriões com 24 h de desenvolvimento. Em seguida, o RNA total foi transcrito para cDNA. A região codificante da Trx possui 321 bases. Esta região foi amplificada por PCR e ligado ao vetor de clonagem pGEM-T Easy e, posteriormente, sub-clonada no vetor de expressão procarioto pCold-TF DNA, um vetor de choque a frio contendo uma proteína de fusão. A Trx recombinante (~12 kDa) é produzida ligada a uma proteína de fusão (TF) com massa molecular de aproximadamente a 52 kDa. Nos ensaios de expressão observamos um elevado nível de rendimento de proteína produzida que puderam ser observadas no gel de poliacrilamida a 12%. Os próximos passos deste trabalho são determinar os parâmetros cinéticos da Trx recombinante e verificar a sua capacidade de reconhecer e reduzir diferentes proteínas oxidadas.

Palavra chave: Trx, proteína recombinante, redox, embriões, *Aedes aegypti*.

Fomento: FAPERJ, CNPq, CAPES e UENF.