

625  
2008

PL-2008.0035

# Produção e purificação de seda recombinante da aranha brasileira *Nephilengys cruentata*

Souto, BM<sup>1,2</sup>; Verza, NC<sup>1</sup>; Oliveira, PEF<sup>1,3</sup>; Bittencourt, D<sup>1,2</sup>; Madeira, LM<sup>1,2</sup>; Andrade, AC<sup>1</sup>; da Silva, FR<sup>1</sup>; Lewis, RV<sup>4</sup>; Rech, EL<sup>1</sup><sup>1</sup>Núcleo de Biotecnologia, EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF, Brazil;<sup>2</sup>Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasília, Brasília-DF, Brazil;<sup>3</sup>Departamento de Ciências Genômicas e Biotecnologia Molecular, Universidade Católica de Brasília, Brasília-DF, Brazil;<sup>4</sup>Department of Molecular Biology, University of Wyoming, Laramie-WY, USA

betulia@cenargen.embrapa.br

**Palavras-chave:** sedas de aranhas, expressão heteróloga, biodiversidade brasileira

Aranhas produzem uma variedade de sedas que possuem extraordinárias propriedades moleculares e mecânicas. Utilizando seqüências expressas nas glândulas da seda, fomos capazes de identificar quatro proteínas produzidas pelas glândulas ampoladas (maior e menor), flageliforme e tubiliforme da espécie de aranha brasileira *Nephilengys cruentata* (Araneae: Nephilidae). As novas proteínas identificadas mostraram grande similaridade com outras sedas previamente descritas. Dentre essas sedas, a produzida pela glândula flageliforme (NCFlag-like) é extremamente elástica, o que facilita a captura de presas sem que ocorra o rompimento do fio. A engenharia genética permitiu a produção de sedas de aranhas em sistemas heterólogos e com o objetivo de utilizá-las para gerar novos biomateriais. NCFlag-like é composta por seqüências altamente repetitivas formadas pelos peptídeos (GPGGX)<sub>n</sub> (X representa A, V, S e Y) e três repetições de GGX (X representa A, S e T) separados por uma seqüência não repetitiva conhecida como espaçador. A seqüência GPGGX parece formar estruturas secundárias β-espiral que contribuem para o mecanismo de elasticidade da fibra. Identificamos nesta seda três módulos repetitivos diferentes e um espaçador. Realizamos uma otimização de códon para *Escherichia coli* e utilizando PCR de oligonucleotídeos e síntese de seqüências de nucleotídeos, clonamos os quatro módulos repetitivos *in tandem* no vetor de expressão pET19b e obtivemos *E. coli* BL21(DE3) pLysS recombinante. A purificação foi realizada utilizando uma coluna de cromatografia de afinidade carregada com níquel, para cauda de histidina. A proteína resultante expressa foi identificada por "Western blot", utilizando anticorpo contra a cauda de histidinas codificada pelo vetor. A produção em larga escala das fibras da seda de aranhas tornaria possível a produção de uma nova geração de biomateriais com alto grau de biodegradabilidade, que envolvem aplicações práticas em diferentes segmentos do setor industrial.

Apoio financeiro: CNPq, Embrapa, UnB.

Acro

Produção Científica