

**BB. Expressão heteróloga de scFv direcionado ao reconhecimento de *Candida* spp.**

Maria Eduarda Dias Marangoni¹, Gabriela Yamazaki de Campos¹, Thiago Aparecido da Silva¹

¹Departamento de Análises Clínicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)

Introdução: A candidíase invasiva é uma infecção fúngica grave, causada principalmente por *Candida* spp., que afeta pacientes hospitalizados e apresenta alta mortalidade (63,5%). *C. albicans* é a espécie mais prevalente e sua plasticidade morfológica contribui para a virulência e evasão imune. O tratamento de primeira linha é feito com equinocandinas, como a Caspofungina, mas a toxicidade associada ao tratamento prolongado e o aumento da resistência representam um agravamento no cenário clínico. O diagnóstico enfrenta desafios devido à baixa sensibilidade e lentidão dos métodos baseados em cultura; técnicas moleculares como PCR são mais rápidas, porém caras e suscetíveis a falsos positivos. Biomarcadores como β -glucano e detecção de mananas são promissores, assim como anticorpos monoclonais, que reconhecem antígenos específicos. O fragmento variável de cadeia única (scFv), derivado de anticorpo monoclonal, é a região responsável pela especificidade, podendo ser obtido por phage display e aplicado em terapias alvo-dirigidas, biossensores, CAR-T e kits diagnósticos. Nesta proposta, visa-se otimizar a expressão bacteriana do scFv κ 3-1, previamente descrito, que reconhece múltiplas espécies de *Candida*. Após otimização para máxima produção e solubilidade, sua interação com diferentes espécies será avaliada, buscando validar o scFv como ferramenta diagnóstica e potencialmente terapêutica. **Objetivo:** Este projeto propõe a otimização da expressão recombinante do anticorpo scFv- κ 3-1 (fragmento variável de cadeia única), previamente identificado por meio da técnica de *phage display*, avaliando seu desempenho em diferentes condições de expressão. **Metodologia:** A proposta consiste na expressão heteróloga do fragmento variável de cadeia única scFv- κ 3-1 em *Escherichia coli* (cepa BL21DH3), avaliando diferentes condições experimentais, incluindo o uso de meio autoindução Terrific Broth (TB) e Isopropil- β -D-1-tiogalactopiranosídeo (IPTG), tempos de indução de 4 e 24 horas e temperaturas de 22 °C e 37 °C. O produto obtido será purificado por cromatografia com coluna de afinidade Ni-NTA, utilizando concentrações crescentes de imidazol como eluente (10, 15, 30, 50, 70 e 100 mM), e posteriormente terá sua capacidade de reconhecer *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. auris* analisada por microscopia de fluorescência e citometria de fluxo. **Resultados e discussão:** Até o momento, os resultados mostram que a expressão da proteína foi mais eficiente em meio Terrific Broth (TB), provavelmente devido ao processo de autoindução gradual, que causa menor estresse celular em comparação à indução com IPTG. Além disso, a purificação apresentou melhor rendimento e seletividade da proteína recombinante quando utilizada solução eluente contendo 15 mM de imidazol. **Conclusão:** A expressão da proteína recombinante scFv- κ 3-1 foi mais eficiente em meio de autoindução Terrific Broth (TB). A purificação, realizada por cromatografia de afinidade e analisada posteriormente por SDS-PAGE a 12% com coloração por Comassie Blue, confirmou que a solução eluente de 15 mM de imidazol apresentou o melhor desempenho.

Palavras-chave: Anticorpo monoclonal, *Candida* spp, scFv

Apoio Financeiro: PIBIC - Unesp Reitoria (Edital PROPe 8/2024)