

APRIMORAMENTO DA PRODUÇÃO DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES EM *Komagataella phaffii* X-33: ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE CEPA MUTANTE E SELVAGEM

Emanuella de Faria Vaz Coelho¹; Caio Roberto Soares Bragança¹

¹Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG) - Passos.

Introdução: Leveduras como *Komagataella phaffii* (anteriormente conhecida como *Pichia pastoris*) têm se destacado como sistemas promissores para a expressão de proteínas recombinantes, devido à combinação de alta eficiência de expressão com a capacidade de realizar modificações pós-traducionais. Um fator-chave no sucesso desta é sua habilidade de metabolizar metanol, processo mediado pela enzima álcool oxidase (AOX). A regulação desse sistema, influenciada pela concentração de metanol e oxigênio, afeta diretamente a expressão dos genes AOX1 e AOX2. No entanto, a toxicidade do metanol e a baixa taxa metabólica em relação a outras fontes de carbono permanecem como desafios a serem superados. Para contornar esses obstáculos, a técnica de melhoramento genético por mutagênese UV foi aplicada para gerar uma cepa mutante de *K. phaffii* X-33 (UEMG-LF/MUT-1). Esta demonstrou maior velocidade de crescimento em baixas concentrações de metanol em comparação com a selvagem, evidenciando o potencial da mutagênese para adaptar cepas com vistas à produção otimizada de proteínas recombinantes. **Objetivo:** Portanto, o estudo objetiva a avaliação do potencial da cepa mutante na produção de proteínas recombinantes quando comparado com a cepa selvagem. Assim, para testar a eficiência da cepa mutante na produção de proteínas recombinantes, foi escolhido o gene que codifica a proteína NS1 do vírus da dengue, dada sua relevância no diagnóstico e no desenvolvimento de vacinas. **Metodologia:** O gene foi inserido em uma bactéria, *Escherichia coli* TOP10F, para sua rápida produção por meio de transformação por choque térmico. Havendo, após essa, extração do DNA plasmidial. As cepas foram transformadas por eletroporação com o plasmídeo pPICZA/NS1/DENV-I e induzidas com 0,1% de metanol a cada 12 horas, durante 4 dias. O sobrenadante foi coletado e purificado utilizando o reagente Y-PER (ThermoFisher Scientific®) seguindo as especificações do fabricante. **Resultados:** A produção da proteína NS1 foi avaliada por SDS-PAGE, com resultados preliminares indicando que a cepa mutante UEMG-LF/MUT-1 possui maior eficiência na produção de proteínas recombinantes em comparação com a cepa selvagem, mesmo em condições de concentração reduzida de metanol. **Conclusão:** Esses achados sugerem o potencial dessa cepa para aplicações industriais na produção de biomoléculas, especialmente em processos que requerem modificação pós-traducional.

Palavras-chave: *Komagataella phaffii*; Proteína recombinante; Levedura; Expressão gênica; Biotecnologia.