

AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DO GENE CODIFICADOR DA PROTEÍNA FACILITADORA TRANSMEMBRANA (MFTP) DE *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA*



ERIKA SABATINI FIGUEIREDO¹, JEVERSON FRAZZON²

1. Autora, Engenharia de Alimentos, UFRGS;
2. Orientador;



INTRODUÇÃO

A enzima ciclodextrina glicosiltransferase (CGTase) tem despertado grande interesse industrial, pois tem a capacidade de sintetizar o amido em moléculas cíclicas, os quais podem formar complexos de inclusão em moléculas hidrofóbicas. Sua importância na indústria de alimentos se deve ao fato de que estes compostos podem melhorar a estabilidade de aromas, vitaminas e cor presentes nos alimentos. Foi, então, isolado, clonado e expressado uma CGTase a partir da *Stenotrophomonas maltophilia*, entretanto, esta enzima manteve-se no meio intracelular, impedindo a sua caracterização.

OBJETIVOS

Para que fosse possível a expressão Extracelular desta enzima, é preciso identificar, isolar e sequenciar um gene codificador da Proteína MFTP (Proteína Facilitadora Transmembrana). Portanto, os objetivos deste trabalho são desenvolver um sistema de co-expressão dos genes codificantes das proteínas CGTase e MFTP recombinantes, a fim de obter esta enzima no meio extracelular.

METODOLOGIA E RESULTADOS

A partir do DNA genômico da *S. maltophilia* isolado:

1. Amplificação do gene *mft* (1.485 pb) por PCR
Utilizaram-se oligonucleotídeos sintéticos, que foram baseados no genoma completo da *S. maltophilia*.



- 2. Gel de agarose para confirmação do fragmento**
Em seguida foi feito um gel de agarose confirmando o fragmento com 1.485 pb.
- 3. Ligação deste fragmento no vetor II-Blunt-TOPO®**
Vetor obtido através do kit TOPO® Cloning reaction.
- 4. Transformação em células competentes de *E. coli DH5α***
A transformação foi adicionada em placas de Petri com meio LB contendo o antibiótico Canamicina.

CONCLUSÃO

O gene *mft* foi isolado e identificado, confirmando um fragmento de 1.485 pares de base com homologia esperada ao gene presente no DNA da *S. maltophilia*. Entretanto, não foi possível o desenvolvimento de um sistema de co-expressão em *Escherichia coli DH5α*.

REFERÊNCIAS

1. WRZESINSKI, A.; FRAZZON, J.; THYS, R. C. S.; HERTZ P. F. Identification, characterization, cloning and heterologous expression of a novel Cyclodextrin Glycosyltransferase (CGTase) obtained from *Stenotrophomonas maltophilia*
2. CHENG, J., WU, D., CHEN, S., CHEN, J., WU, J. High-level extracellular production of α -cyclodextrin glycosyltransferase with recombinant *Escherichia coli* BL21 (DE3). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 59, p. 3797–3802, 2011.