

401

**A PROTEÍNA TRIPTOFANO SINTASE DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS H37RV: AMPLIFICAÇÃO E CLONAGEM DOS GENES TRPA E TRPB.** Clarissa Melo Czekster, Christopher Schneider, Luiz Augusto Basso (orient.) (UFRGS).

A tuberculose é uma doença infecciosa responsável por 3 milhões de óbitos por ano. Seu agente etiológico, *Mycobacterium tuberculosis*, infecta 8, 8 milhões de pessoas a cada ano; estima-se que um terço da população mundial esteja infectada. A situação é mais preocupante em países em desenvolvimento, onde a coinfeção com HIV e casos de linhagens multirresistentes a drogas de primeira linha (MDR-TB) agravam o quadro. Assim, faz-se necessário o desenvolvimento de novos fármacos para combater a doença de forma eficaz. Uma alternativa interessante é a via do ácido chiquímico, que leva à biossíntese de corismato, presente em bactérias, plantas vasculares e avasculares, fungos e parasitas do filo apicomplexa e ausente em mamíferos, sendo, então, um alvo promissor para o desenho de novas drogas. A partir do corismato são sintetizados os aminoácidos aromáticos tirosina, fenilalanina e triptofano. A enzima triptofano sintase é um complexo a<sub>22</sub> codificado pelos genes *trpA* e *trpB*, que codificam, respectivamente, a cadeia a e b. A enzima catalisa a conversão de indol-3-glicerol fosfato a triptofano, em múltiplas reações enzimáticas, formando gliceraldeído-3-fosfato, liberado em solução, e o intermediário indólico, o qual permanece associado ao sítio ativo da enzima. Em uma etapa posterior, a enzima catalisa a condensação deste intermediário indólico e serina formando o produto final triptofano. Esse trabalho relata a amplificação de ambos os genes pela técnica de PCR e a clonagem desses em vetor de clonagem pCR-Blunt. Eles serão posteriormente subclonados em vetores de expressão, sendo o gene *trpA* em vetor pET-23a(+), e o gene *trpB* em vetor pET-30a(+). O próximo passo será a co-expressão de ambos os genes, na fração solúvel, em células de *Escherichia coli* BL21(DE3), para obtenção da proteína em estado homogêneo através da técnica de cromatografia líquida. A proteína será utilizada na realização de estudos cinéticos, cristalográficos e estruturais.