

A tuberculose (TB) é uma doença causada principalmente por *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), e que em 2008 teve uma incidência global avaliada de 9,4 milhões de casos e 1,3 milhões de mortes. A alta mortalidade da doença, fácil transmissão, co-infecção com HIV, além do surgimento de cepas resistentes aos medicamentos utilizados no tratamento, ressaltam a urgente necessidade do desenvolvimento de novas drogas anti-TB. A enzima citidina 5'-trifosfato sintase (CTPS) de MTB, codificada pelo gene *pyrG*, é um alvo interessante para o desenvolvimento de fármacos, pois catalisa uma etapa crítica na via *de novo* de pirimidinas: a conversão ATP-dependente de CTP a partir de UTP, utilizando L-glutamina ou amônia como fonte de nitrogênio. O objetivo do presente trabalho é o estudo molecular, cinético e estrutural da enzima CTPS de MTB, visando o desenvolvimento racional de novos agentes anti-TB. Foram desenhados oligonucleotídeos iniciadores que possibilitaram a amplificação por PCR do gene *pyrG*, utilizando o DNA genômico de MTB como molde. O amplicon foi clonado em vetor pCR-Blunt® e subclonado em vetor de expressão pET-23a(+). Testes de expressão protéica utilizando cepas de *E. coli* transformadas com pET-23a(+):*pyrG* foram realizados. A melhor condição de expressão de CTPS na fração solúvel foi obtida em células *E. coli* BL21(DE3), em meio TB a 30°C. Protocolos de purificação, por HPCL, têm sido realizados a fim de se obter a proteína recombinante na sua forma homogênea a partir de extrato bruto de *E. coli*, embora o protocolo esteja em definição é possível visualizar após uma única etapa cromatográfica a proteína em sua forma quase homogênea. As próximas etapas do trabalho consistem nos estudos de caracterização cinética e estrutural da enzima. Espera-se com este trabalho determinar o papel biológico do gene *pyrG* de MTB, bem como de seu produto, etapas essenciais para o desenvolvimento racional de uma nova droga anti-TB.