

Sessão 7
Genética Molecular II

053

CLONAGEM E SEQUENCIAMENTO DO GENE TRPC DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS H37RV. Clarissa Melo Czekster, Christopher Schneider, Isabel Osório Fonseca, Luiz Augusto Basso (*orient.*) (Departamento de Biologia Molecular e Biotecnologia, Instituto de Biociências, UFRGS).

Mycobacterium tuberculosis é o agente causador da tuberculose (TB), doença infecciosa responsável por 3 milhões de óbitos anuais no mundo. Aproximadamente um terço da população mundial se encontra infectada, sendo que, em países em desenvolvimento, a situação é mais preocupante devido à elevada incidência de HIV e aos casos de linhagens multirresistentes às drogas convencionais (MDR-TB). Perante esses fatos, novos agentes microbianos devem ser desenvolvidos para o tratamento da doença. A via do chiquimato está presente em bactérias, plantas vasculares e avasculares, fungos e parasitas do filo Apicomplexa. Logo, sua ausência em mamíferos a torna um alvo promissor para o desenvolvimento de novas drogas anti-TB. Essa via leva à biossíntese do corismato, precursor dos aminoácidos tirosina, fenilalanina e triptofano. A enzima indol-3-glicerol-fosfato sintase de *M. tuberculosis*, codificada pelo gene *trpC*, catalisa o quarto passo sequencial na biossíntese do triptofano. O presente trabalho relata a amplificação do gene *trpC* por meio da técnica de PCR, a clonagem em vetor de expressão pET-23a(+) e o sequenciamento do mesmo para confirmação de sua identidade e ausência de mutações que possam ter sido introduzidas na etapa de amplificação. O próximo passo será a superexpressão da proteína recombinante, na fração solúvel, em células de *Escherichia coli* BL21(DE3), para obtenção da proteína em estado homogêneo através da técnica de cromatografia líquida. Este material proteico possibilitará estudos cinéticos em estado estacionário e pré-estacionário, espectroscópicos e cristalográficos da enzima. Apoio: Institutos do Milênio e CNPq. (CNPq-Proj. Integrado).