

406

MUTANTES DE CHROMOBACTERIUM VIOLACEUM OBTIDOS POR INSERÇÃO ALEATÓRIA DE TRANSPOSOM. Karyne Maurmann, Débora Trentini, Ricardo Cecagno, Irene Silveira Schrank (*orient.*) (UFRGS).

A bactéria Gram-negativa *Chromobacterium violaceum* é natural de ecossistemas tropicais e se caracteriza por um grande potencial de aplicação biotecnológica, principalmente devido à produção de violaceína, pigmento com propriedades antimicrobianas. Este organismo foi selecionado pelo Consórcio de Laboratórios pertencentes ao Projeto Genoma Brasileiro (BRGene) para seqüenciamento completo do seu genoma. Em laboratório, primeiramente foi implementado o cultivo em meio Luria-Bertami (LB) e testada a suscetibilidade da bactéria a diferentes antibióticos. *C. violaceum* apresentou resistência a até 60µg/ml de ampicilina, mas foi sensível a canamicina e tetraciclina. Foram padronizados os métodos de conjugação e transformação da bactéria através de experimentos utilizando dois plasmídeos de amplo espectro com as marcas de resistência a canamicina e tetraciclina. Estes resultados permitiram realizar a padronização da mutagenese por transposon, e a transformação foi realizada utilizando o transposon Tn5 (resistência a canamicina) do *kit* comercial EZ::TN<KAN-2>Tnp TRANSPOSOME (Epicentre). Este experimento gerou um banco de mutantes, com o qual foram realizadas diversas análises fenotípicas. A partir desses testes foi possível identificar mutantes com crescimento lento, outros com pigmentação modificada (nos quais posteriormente foram realizados testes de auxotrofia para triptofano), mutantes com auxotrofia para aminoácidos além de dois com atividade diferenciada para lipase e esterase. No momento, estão sendo realizados experimentos para análises genotípicas com os mutantes que apresentaram variação no fenótipo. Pretende-se avaliar o local de inserção do transposon a partir de técnicas de caminhada cromossômica.