

323

**COMPLEMENTAÇÃO GÊNICA DE MUTANTES ESCHERICHIA COLI AB2847 UTILIZANDO O GENE AROB DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS H37RV.** Jordana Dutra de Mendonça, Fernanda Ely, Luiz Augusto Basso, Diógenes Santiago Santos, Jeverson Frazzon

(orient.) (UFRGS).

Segundo a OMS há 9 milhões de novos casos de tuberculose (TB) por ano, levando a até 2 milhões de mortes. O surgimento de linhagens multi-resistentes de *Mycobacterium tuberculosis* e o aumento de casos de co-infecção de TB-HIV têm criado a necessidade da caracterização de novos alvos terapêuticos para combater esse problema. Uma abordagem é o desenho de inibidores específicos a alvos vitais ao patógeno, como a via do Ácido Chiquímico, responsável pela biossíntese de aminoácidos aromáticos e outros metabólitos secundários. Esta via está presente no *M. tuberculosis* e ausente em humanos, tornando as enzimas que a compõe alvos para o desenvolvimento de drogas antimicrobianas. Um alvo potencial é a segunda enzima, deidroquinato sintase (DQS), codificada pelo gene *aroB* e responsável pela conversão de 3-deoxy-D-arabino-heptulosonato-7-fosfato em deidroquinato. Após a amplificação, clonagem, expressão e purificação da enzima, tornou-se necessário a comprovação da sua funcionalidade para justificar estudos estruturais e cinéticos, fundamentais para o desenho de inibidores específicos. Como nem substrato ou produto da enzima é comercializado, a complementação gênica foi utilizada com essa finalidade. O gene *aroB* do *M. tuberculosis* foi sub-clonado em vetor de expressão pKK223-3 (NCCB 3190) com sítios de restrição EcoRI/HindIII. Mutantes *Escherichia coli* AB2847 (Genetic Stock Center), knockout para o gene *aroB*, foram transformados com pKK223-3::*aroB* e submetidos a crescimento em meio mínimo, com e sem a suplementação ao meio de aminoácidos aromáticos, a 37°C. Após 24 horas, observou-se que a complementação gênica tornou os mutantes capazes de crescer em meio mínimo não suplementado. Como controle, foi utilizado o mutante transformado apenas com pKK223-3, o qual somente foi capaz de crescer em meio suplementado. Os resultados justificam estudos estruturais da DQS, essenciais no desenvolvimento de novos medicamentos anti-TB. (PIBIC).