

438

CLONAGEM E EXPRESSÃO DE SERINO PROTEASE DE CHROMOBACTERIUM VIOLACEUM. *Natália Pezzi Fachinelli, Ana Luísa Pedroso Ayub, Arnaldo Zaha (orient.) (UFRGS).*

Chromobacterium violaceum é uma bactéria gram-negativa de hábito saprófito, que vive em solos e águas de regiões tropicais e subtropicais, sendo que no Brasil é encontrada abundantemente nas águas do Rio Negro (AM). Essa bactéria apresenta grande potencial para aplicações nas áreas de saúde, ecologia e indústria. Entre as potenciais aplicações, encontram-se a produção de plásticos biodegradáveis, limpeza de áreas poluídas com metais pesados e acúmulo de partículas de ouro em áreas de mineração. A partir do seqüenciamento completo do genoma de *C. violaceum* (GenBank AEO16825), realizado pela Rede Nacional do Projeto Genoma Brasileiro, surgiram muitas perspectivas para o entendimento deste organismo e seu potencial biotecnológico. Para a realização deste trabalho foi selecionada uma seqüência codificadora de interesse para a expressão em *Escherichia coli*: CV2717 - provável serino protease extracelular. A estratégia adotada para a clonagem foi a amplificação das seqüências codificadoras por PCR e posterior clonagem blunt no vetor de expressão pGEX-4T2. A fidelidade da amplificação foi verificada pelo seqüenciamento dos produtos de amplificação clonados. A expressão da proteína recombinante, na forma de fusão com glutationa-S-transferase, foi obtida na fração solúvel utilizando células da linhagem AD494 de *E.coli*, em condições de multiplicação celular a 37°C e de indução com 0, 1 mM de IPTG por 3 h. As amostras obtidas foram analisadas por eletroforese em SDS- PAGE (12%) corado com Coomassie Blue. A proteína recombinante foi purificada por cromatografia de afinidade a GST. Após a clivagem com trombina, serão realizados testes funcionais para verificar a atividade de protease, utilizando azocaseína como substrato.