

360

EXPRESSÃO DA QUITINASE CHIT42 DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Metarhizium anisopliae* EM *Escherichia coli*. Leonardo B. Leiria, César M. Baratto, Marilene H. Vainstein¹, Augusto Schrank². (Laboratório de Biologia Celular e Molecular de Fungos Filamentosos – CBIOT-PPGBCM –UFRGS).

O fungo filamentosso *Metarhizium anisopliae* possui um grande potencial para o controle biológico de insetos-praga e carrapatos na agricultura e NA pecuária. O fungo penetra ativamente pela cutícula do hospedeiro utilizando processos mecânicos, com a formação de estruturas de parasitismo, e hidrólise enzimática. Chitinases, assim como outras hidrolases, estão provavelmente relacionadas ao processo de morfogênese e de infecção de *M. anisopliae*. As seqüências genômica e de cDNA do gene regulado *chit1*, que codifica para uma das quitinases de *M. anisopliae* (CHIT 42) foi anteriormente determinada pelo grupo. A massa molecular estimada da proteína madura é de 42 kDa. Entretanto, não há informações sobre suas seqüências regulatórias e tampouco sobre os elementos envolvidos em sua ativação. Com a finalidade de se obter a quitinase CHIT42 em quantidade suficiente para a sua caracterização, a enzima foi superexpressada em *E. coli* (BL21DE3) a partir de uma construção contendo o vetor pT7-7. De acordo com os resultados a proteína recombinante expressada foi encontrada em corpos de inclusão na fração insolúvel. Desta maneira, esta fração foi solubilizada com uma solução caotrópica. A proteína recombinante é reconhecida por um anti-corpo anti-CHIT42 purificada de *Trichoderma harzianum*. Fizemos uma purificação parcial utilizando uma coluna de troca aniônica (DEAE-Sepharose). A expressão dessa quitinase em bactéria, além de facilitar a purificação para a sua caracterização, pode auxiliar em sua imunolocalização, permitindo verificar a sua presença no sítio de infecção durante a penetração no hospedeiro. (PIBIC-CNPq)