

CLONAGEM E EXPRESSÃO DE SUPERÓXIDO DISMUTASE DE *METARHIZIUM ANISOPLIAE* EM *ESCHERICHIA COLI*. *Guilherme S. Jacques, Hermides Pinto Jr., Irene S. Schrank, Luciane M. P. Passaglia* (Centro de Biotecnologia, Deptos de Genética e de Biologia Molecular e Biotecnologia, UFRGS).

A superóxido dismutase (SOD) cataliza a redução de superóxido ($\text{HO}_2\bullet$) à peróxido de hidrogênio (H_2O_2), protegendo a célula contra danos oxidativos. Um gene SOD de *Metarhizium anisopliae* - fungo utilizado no controle biológico - havia sido anteriormente clonado e seqüenciado. O cDNA deste gene foi, então, amplificado, por PCR, com “primers” contendo sítios de clivagem para clonagem em vetor de expressão. O fragmento amplificado foi primeiramente clonado em um vetor de clonagem (pUC18/*Sma*I) e seqüenciado. O fragmento foi então liberado em uma clivagem *Nco*I/*Bam*HI, purificado e inserido no vetor de expressão pET 23d. O plasmídeo recombinante foi introduzido em *Escherichia coli* BL21-DE3. A indução da expressão da proteína recombinante foi feita adicionando-se IPTG ao meio de cultura. Embora tenha sido observada uma banda de indução de aproximadamente 29 kDa em SDS-PAGE, o extrato protéico não apresentou atividade de superóxido dismutase em gel nativo. Esses resultados sugerem duas possibilidades: (1) a proteína induzida não está em sua conformação ativa no extrato protéico analisado; ou (2) a proteína observada nas condições de indução não corresponde a uma SOD. (Fapergs e CNPq/PIBIC-UFRGS-2000/2001).