

A tuberculose (TB) é uma doença causada pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis* e que acomete cerca de 9 milhões de pessoas no mundo, a cada ano. Os altos índices de mortalidade da doença aliados à co-infecção HIV-TB e também ao surgimento de cepas resistentes aos medicamentos utilizados no tratamento levam à necessidade urgente de desenvolver novas drogas anti-TB. A enzima citidina deaminase (CDA) de *M. tuberculosis* é um alvo interessante para o desenvolvimento de fármacos, pois participa da rota de salvamento de pirimidinas, uma via alternativa para obtenção de nucleotídeos, essenciais para a replicação do bacilo, com menor gasto de energia. Baseados em estudos recentes que sugerem o envolvimento do resíduo conservado Glutamato 47 na atividade catalítica desta enzima, nosso grupo propõe a substituição de tal aminoácido pelos resíduos Alanina, Histidina e Glutamina, a fim de caracterizar a cinética das enzimas mutantes e um melhor entendimento sobre o mecanismo catalítico da CDA. A mutagênese sítio-direcionada foi realizada pela técnica de amplificação por PCR utilizando como molde o gene *cdd* de *M. tuberculosis*. Em seguida, os genes mutados foram clonados em vetor pCR-Blunt, clivados com enzimas de restrição *NdeI* e *HindIII* e subclonados em vetor de expressão pET23a(+). Logo, foi realizado o sequenciamento destes genes para confirmar a presença das mutações desejadas bem como para certificar a ausência de mutações indesejadas. Testes de super-expressão heteróloga e de purificação protéica por FPLC, estão sendo realizados, com a finalidade de obtenção de proteína purificada para realização de estudos cinéticos e estruturais. Esperamos com esse trabalho determinar o papel do resíduo Glutamato 47 na reação catalisada pela enzima CDA e que estes resultados contribuam para o desenvolvimento racional de drogas anti-TB e, também, vacinas atenuadas para prevenção da doença.