

A proteína Kin3 é uma serina treonina cinase de *Saccharomyces cerevisiae*. Recentemente, demonstramos que a linhagem *kin3Δ* apresenta pronunciada sensibilidade a agentes mutagênicos indutores de danos do tipo adutos no DNA, além de apresentar ausência de controle de ciclo celular na fase G₂/M nestas condições. Adicionalmente, demonstramos que há um aumento de expressão desta proteína durante a resposta a danos no DNA. Esta proteína parece atuar em uma via de sinalização de danos dependente das cinases sinalizadoras Mec1/Tel1 e interage diretamente com cada uma das proteínas do complexo Mre11/Rad50/Xrs2. Este trabalho tem como objetivo realizar alterações na sequência de aminoácidos da proteína Kin3 e verificar o perfil da linhagem selvagem BY4741 de *S. cerevisiae* contendo esta proteína alterada durante a resposta a danos no DNA e interação com outras proteínas. Para isso, estão sendo conduzidas estratégias de mutagênese sítio dirigida, com a utilização do sistema de mutagênese *pAlter-Ex2* (Promega). O gene *KIN3* foi clonado no vetor plasmidial *pAlter*. Em seguida, este vetor simples fita será incubado com oligonucleotídeos iniciadores contendo alterações na sequência do gene *KIN3* (deleções e substituições de nucleotídeos) e estes plasmídeos recombinantes serão isolados. Na última etapa, esses plasmídeos serão inseridos na levedura selvagem BY4741 para os eventos de recombinação e substituição do gene selvagem pelo alelo mutado. Nossos dados preliminares de avaliação da sequência da proteína Kin3, comparando com dados da literatura, indicam que o ácido aspártico da posição 55 pode ser importante para as reações de transferência de fosfatos pela Kin3 e que a sequência de serinas e treoninas entre as posições 247-256 (TYVGTPYYMS) é o provável sítio de fosforilação desta proteína.

Financiamento: CNPq e FAPERGS.