

107

CLONAGEM E EXPRESSÃO DE VIOA, FIS E SERINO-PROTEASE DE CHROMOBACTERIUM VIOLACEUM. Natália Pezzi Fachinelli, Morassutti Al, Chemale G, Alarcon F, Vasconcelos Atr, Arnaldo Zaha (orient.) (UFRGS).

Chromobacterium violaceum é uma bactéria gram-negativa de vida livre encontrada em regiões tropicais e subtropicais, sendo abundante nas águas do Rio Negro (AM). Ela tem grande potencial medicinal, ecológico e industrial, sendo capaz de produzir plásticos biodegradáveis como atuar na limpeza de áreas poluídas com metais pesados. O sequenciamento completo do genoma de *C. violaceum*, realizado pela Rede Nacional do Projeto Genoma Brasileiro, abriu novas perspectivas para estudos de genes de interesse (Vasconcelos et al., 2003). Para a realização deste trabalho foram selecionadas três seqüências codificadoras de interesse para a expressão em *Escherichia coli*, sendo: Cv3274- *vioA*, um dos genes integrantes do “cluster” *vioABCD*, que codifica proteínas envolvidas na síntese de violaceína, um composto que apresenta atividades bactericida, antiviral e anticâncer; Cv2717- provável serino protease extracelular; e Cv0545- DNA-binding protein *Fis*, ambas com potencial atividade na regulação celular. A metodologia utilizada foi a amplificação das seqüências codificadoras por PCR para clonagem no vetor de expressão pGEX-4T2 e posterior sequenciamento dos produtos de amplificação clonados. As proteínas recombinantes, na forma de fusão com glutathione-S-transferase, foram expressas em *E. coli* BL21, em condições de multiplicação celular a 37°C e de indução com 0, 1 mM de IPTG por 6 h. As amostras dos extratos das bactérias transformadas foram separadas em gel de poliacrilamida-SDS (12%) e a coloração feita com Coomassie Blue. As proteínas Cv0545 e Cv3274 foram detectadas na fração solúvel e a Cv2717, na fração insolúvel. As proteínas recombinantes deverão ser purificadas por cromatografia de afinidade (resina de glutathione agarose) e clivagem com trombina para posterior realização de testes funcionais, de acordo com a natureza e atividade esperada para cada uma delas.