

435

**CARACTERIZAÇÃO DE MUTANTES DE CHROMOBACTERIUM VIOLACEUM OBTIDOS UTILIZANDO MUTAGÊNESE ALEATÓRIA POR TRANSPOSONS.** Karyne Maurmann, Débora Trentine, Ricardo Cecagno, Irene Silveira Schrank (orient.) (UFRGS).

*Chromobacterium violaceum* foi o organismo selecionado pelo Consórcio de Laboratórios pertencentes ao Projeto Genoma Brasileiro (BRGene) para seqüenciamento completo do seu genoma. É uma bactéria Gram-negativa natural de ecossistemas tropicais, com grande potencial de aplicação biotecnológica devido à produção do pigmento violaceína de propriedades antimicrobianas e pela seu potencial de ação como patógeno oportunista humano. O cultivo em laboratório foi implementado em meio Luria-Bertami (LB) e *C. violaceum* foi capaz de se multiplicar na presença de até 60µg/ml de ampicilina, mas foi sensível aos antibióticos canamicina e tetraciclina. Para a padronização de experimentos de conjugação e transformação foram utilizados dois plasmídeos de amplo espectro com as marcas de resistência a canamicina e tetraciclina. Tais resultados permitiram iniciar a padronização da mutagênese aleatória utilizando transposon e resultaram em um banco de mutantes através da transformação de *C. violaceum* com o transposon Tn5, (resistência a canamicina) do kit comercial EZ::TN<KAN-2>Tnp TRANSPOSOME (Epicentre). A análise fenotípica realizada no banco de mutantes demonstrou que aproximadamente 1/3 dos mutantes obtidos apresentam um crescimento lento e alguns com pigmentação modificada, onde a coloração variou entre violeta claro, laranja e ausência de pigmentação. Estão sendo realizados experimentos de hibridização para uma avaliação do local de inserção do transposon. Também estão em andamento experimentos de outras análises fenotípicas, para o isolamento, através de provas bioquímicas, de mutantes negativos para a atividade de diversas enzimas, e mutantes auxotróficos para os aminoácidos.