

075

CLONAGEM E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO GENE PSO10 DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE. *Nícolás Carlos Hoch, Renato Moreira Rosa, João Antonio Pegas Henriques (orient.) (UFRGS).*

Os mutantes *pso* de *Saccharomyces cerevisiae* são sensíveis a fotoadição de psoralenos mono e bi-funcionais. Dos dez mutantes *pso*, nove já foram clonados e caracterizados molecularmente. O mutante *pso10-1* é o último alelo mutante *pso* ainda não identificado. O objetivo desse trabalho é realizar a análise do fenótipo de sensibilidade do mutante *pso10-1* a diversos agentes genotóxicos, clonar e caracterizar molecularmente o gene *PSO10* de *S.cerevisiae*. O mutante *pso10-1* apresentou sensibilidade à psoralenos fotoativados, radiação UVC, ao agente UV mimético 4-NQO, a agentes alquilantes como o metilmetanosulfonato e mostra-se resistente a dietilnitrosamina e agentes oxidantes. Desses fenótipos, a sensibilidade a radiação UVC foi escolhido para realizar a triagem dos transformantes contendo o banco genômico de *S.cerevisiae* nos experimentos de clonagem. Como finalidade de clonar o gene *PSO10*, a linhagem mutante será transformada com o banco genômico de *S.cerevisiae* construído a partir do vetor YCP50 e os clones transformantes serão testados para complementação do fenótipo de sensibilidade a radiação UVC. Até o momento, cerca de 1500 clones foram testados e 72 candidatos isolados, mas nenhum ainda restaurou o fenótipo selvagem. Os candidatos que restaurarem o fenótipo selvagem serão submetidos a experimentos de perda plasmideal e por fim, a ORF será seqüenciada e analisada. Dessa forma será possível estudar a função da proteína Pso10 na reparação de DNA por meio da análise de linhagens contendo deleções nesse alelo e linhagens duplo-mutantes. Apoio: CNPq, GENOTOX (BIC).