

171

CLONAGEM E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO GENE *PSO3* DE *Saccharomyces cerevisiae*.
Jaqueline C. Rocha, Cláudia Alessandra F. Aiub, Jenifer Saffi, João Antonio P. Henriques (Departamento de Biofísica- Centro de Biotecnologia da UFRGS)

Os mutantes *ps* de *Saccharomyces cerevisiae* foram isolados em 1980, por Henriques, Moustacchi, a partir de uma cultura mutagenizada com MMS (metilmetanosulfonato), sendo sensíveis a fotoadição de derivados de psoralenos. Estes mutantes segregam na meiose como genes mendelianos, são recessivos e complementam-se entre si, bem como outros mutantes da classe *rad*. O alelo mutante *ps*3-1 apresenta uma sensibilidade específica ao efeito letal de furocumarinas monofuncionais (3-carbetoxipsoraleno), peróxido de hidrogênio (H₂O₂), nistatina, paraquat, dietilnitrosamina, cádmio, mustardas nitrogenadas mono e bifuncionais, apresentando uma sensibilidade igual ao alelo selvagem para alguns agentes alquilantes e radiação gama. Para a clonagem do gene *PSO3*, utilizou-se a estratégia de complementação do mutante *ps*3-1 à sensibilidade a H₂O₂ e a dietilnitrosamina. Para isso, uma linhagem mutante foi transformada com um vetor plasmidial contendo banco genômico de levedura, obtendo-se 10.000 transformantes, dos quais 8.000 foram testados e 80 destes foram capazes de reverter o caráter mutante. Após testes complementares de sensibilidade, 7 destes 80 transformantes foram selecionados, o DNA foi extraído, amplificado em bactéria e o padrão de restrição foi analisado. Todos os clones positivos apresentam o mesmo padrão de bandas e contêm um inserto maior de 10kb. A região flanqueadora será seqüenciada e analisada no Banco de Dados de *Saccharomyces cerevisiae*, a fim de se obter a seqüência referente ao gene *PSO3*, para sua posterior caracterização molecular. (CNPq/ Genotox).