



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2014
<b>Local</b>	Porto Alegre
<b>Título</b>	Amplificação e sequenciamento do gene codificador da Proteína Facilitadora Transmembrana (MFTP) de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<b>Autor</b>	ÉRIKA SABATINI FIGUEIREDO
<b>Orientador</b>	JEVERSON FRAZZON

A enzima ciclodextrina glicosiltransferase (CGTase) tem despertado grande interesse industrial, pois tem a capacidade de sintetizar o amido em moléculas cíclicas, denominadas ciclodextrinas (CD) e estes compostos podem formar complexos de inclusão com moléculas hidrofóbicas, os quais podem ter uma considerável aplicação nas indústrias alimentícias, farmacêuticas, agrícolas, químicas e de cosméticos. Na indústria de alimentos sua importância se deve ao fato de que estes compostos podem melhorar a estabilidade de aromas, vitaminas, cor e gorduras insaturadas presentes nestes alimentos. Dos muitos microrganismos capazes de produzir CGTase, usou-se a *Stenotrophomonas maltophilia*, que é um microrganismo isolado do solo, foi então isolado, clonado e expressado uma CGTase a partir deste microrganismo, entretanto esta enzima permaneceu no meio intracelular, impossibilitando a sua caracterização. Para que fosse possível a expressão extracelular desta enzima, é preciso identificar, isolar e sequenciar um gene codificador da proteína MFTP (Proteína Facilitadora Transmembrana). Esta proteína é uma possível facilitadora transmembrana que ancora o gene *cgt*. Portanto o objetivo deste trabalho é desenvolver um sistema de co-expressão dos genes codificantes das proteínas CGTase e MFTP recombinantes, a fim de obter esta enzima no meio extracelular. O DNA da *S. maltophilia* foi isolado através do kit de extração de DNA genômico, a amplificação do gene *mft* foi realizado por PCR, onde foi adicionado 5% de DMSO (Dimetil sulfóxido) para auxiliar a desnaturação de regiões do DNA ricas em ligações CG e através de um gel de agarose foi possível confirmar o tamanho do gene *mft* de 1485 pares de base. Após a confirmação da amplificação do gene *mft* pela técnica de PCR, foi feita uma ligação deste fragmento no vetor II-Blunt-TOPO<sup>®</sup>, vetor obtido através do kit TOPO<sup>®</sup> Cloning reaction, no qual este vetor apresenta uma alta eficiência quando se quer fazer a inserção do fragmento de PCR. Após a ligação foi feita uma transformação em células competentes de *E. coli* DH5 $\alpha$  e então o resultado desta transformação foi adicionado em placas de Petri com meio LB contendo o antibiótico Canamicina, já que este vetor utilizado é resistente a este antibiótico, fazendo com que seja possível verificar a eficiência do processo.