

125

O PRIMEIRO PASSO NA BUSCA DE UM ALVO ALTERNATIVO PARA QUIMIOTERAPIA ANTI-TUBERCULOSE: CLONAGEM E SEQUENCIAMENTO DO GENE *aroG*. Michelle R. Gallas, Luiz A. Basso, Diógenes S. Santos (Dep. de Biologia Molecular e Biotecnologia, UFRGS)

As doenças infecto-contagiosas, entre elas a tuberculose, estão ressurgindo e cada vez mais sendo causadas por cepas resistentes. Portanto, torna-se fundamental a busca de novos antimicrobianos capazes de atacar alvos exclusivos a estes microorganismos. Um destes alvos, é a rota anabólica do ácido chiquímico utilizada por plantas e bactérias para a síntese dos aminoácidos aromáticos. Recentemente, com a publicação da sequência do *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, verificou-se a presença dos sete genes codificantes envolvidos nesta via. Um deles, o *aroG*, codifica a enzima DAPH (3-deoxi-D-arabino-heptulosonato-7-fosfato) Sintase que catalisa o primeiro passo da via do ácido chiquímico, condensando fosfoenolpiruvato e eritrose-4-fosfato. Sabendo-se que o *aroG* está localizado na posição Rv2178c do referido genoma e tem cerca de 1400bp, o objetivo deste trabalho foi a clonagem e sequenciamento do *aroG*, a partir de DNA genômico de *M.tuberculosis* H37Rv. Para tal, amplificou-se este gene via PCR. O fragmento de DNA amplificado foi clonado no vetor pCR®-Blunt, transformado em células TOP10 e, posteriormente, transferido para o vetor de super-expressão pET 23a(+) e transformado em células de *E. coli*. A inserção do fragmento nos vetores recombinantes foi confirmada pela digestão com enzimas NdeI e BamHI. A identificação do gene clonado foi feita por sequenciamento de DNA pelo método de Sanger. Com o gene clonado, pretende-se superexpressar a DAPH Sintase, purificando-a e estudando sua cinética enzimática. As perspectivas deste trabalho incluem a proposta de compostos similares em estrutura química ao substrato ou ao estado de transição da reação enzimática, para que estes possam ser testados como inibidores da DAPH Sintase e, possivelmente, como agentes terapêuticos no tratamento da tuberculose (PADCT e FAPERGS).