

Sessão 11
Genética Molecular III

094

CARACTERIZAÇÃO DO GENE SRG DE METARHIZIUM ANISOPLIAE. *Ana Carolina Oliveira da Costa, Irene Schrank, Augusto Schrank, Paulo Marcos Pinto, Marilene Henning Vainstain (orient.)* (Centro de Biotecnologia do RS, Laboratório de Fungos de Importância Médica e Biot, UFRGS).

Estudando a relação entre o estresse oxidativo e a patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* ao carrapato *Boophilus microplus*, nosso grupo isolou, uma ORF que foi chamada de *srg* (gene relacionado ao superóxido). O objetivo deste trabalho é analisar a possível relação entre o gene *srg* e o sistema de proteção contra espécies reativas de oxigênio (EROs) de *M. anisopliae*. Primers foram projetados, com base na sequência cDNA previamente isolada, para caracterizar de sete linhagens de *M. anisopliae*. Todas as linhagens testadas obtiveram um único amplicon de 450pb e mostraram o mesmo padrão de restrição com a enzima *HindIII*. Análise por “Northern Blotting” mostrou que a presença de Paraquat (um conhecido indutor de radicais superóxido) induz a transcrição do gene, sugerindo que o produto do gene *srg* está envolvido no sistema de proteção EROs do fungo. Com o objetivo de obter-se mais informações sobre a proteína codificada pelo gene *srg*, a ORF deste gene foi clonada no vetor de expressão pET23d. A proteína recombinante, expressa em *E. coli*, mostrou o tamanho esperado de cerca de 17kDa, ficou presente, predominantemente, em corpos de inclusão e foi solubilizada de forma significativa quando se adicionou 0,5% de SDS. A proteína solúvel foi usada para a produção de anticorpos policlonais em coelhos da raça Nova Zelândia. Após quatro semanas os soros dos coelhos imunizados reconheceram a proteína de 17kDa presente nos extratos expressando a proteína SRG heteróloga. (CNPq-Proj. Integrado).