

O cádmio é um metal pesado com características tóxicas e carcinogênicas utilizado na fabricação de baterias e pigmentos industriais. Esse metal pode competir com íons essenciais como cálcio e magnésio por suas respectivas proteínas de transporte. Recentemente foi demonstrado em *Saccharomyces cerevisiae* que a desintoxicação de cádmio pode ser dependente da atividade da proteína Pmr1- um transportador de Ca^{2+} localizado no complexo de Golgi, por um mecanismo que possivelmente envolve a eliminação de cádmio por meio de vesículas secretórias. O objetivo desse trabalho foi clonar o gene *PMR1* num vetor de expressão multicópia sob o controle do promotor *GAL 1*, para futuras análises do efeito da superexpressão desse gene sobre os níveis de cádmio em *S. cerevisiae*. O gene *PMR1* foi amplificado a partir de DNA genômico extraído da linhagem BY4741 utilizando-se a enzima *Platinum's Taq DNA polymerase high fidelity* (Invitrogen) e iniciadores contendo sítios de restrição para as enzimas *Kpn1* e *Xho1*. O produto do PCR foi purificado, digerido com *Kpn1* e *Xho1* e clonado no vetor episossomal pYES2 com o auxílio da enzima T4 DNA ligase. O produto da ligação foi transferido para linhagens de *E. coli* XL-1 Blue por eletroporação e os transformantes selecionados em placas de meio LB contendo ampicilina. O plasmídeo resultante foi extraído das linhagens de *E. coli* com PureLink™ Quick Plasmid Miniprep (Invitrogen). A presença do inserto nesse plasmídeo foi confirmada por dupla digestão com *Kpn1* e *Xho1* e por amplificação do fragmento do gene *PMR1* por PCR, ambos os procedimentos seguidos de análise da presença do fragmento *PMR1* em gel de agarose. A etapa seguinte desse trabalho prevê a transformação de linhagens de *S. cerevisiae* com o plasmídeo *pPMR1* para análise de fenótipo de sensibilidade ao cádmio e efeito da superexpressão do gene *PMR1* sobre a capacidade de acúmulo do metal.