

157

CONSTRUÇÃO E ANÁLISE DE UMA BIBLIOTECA DE CDNA VISANDO A IDENTIFICAÇÃO DE GENES ENVOLVIDOS NA SÍNTESE DE ALCALÓIDES EM PSYCHOTRIA BRACHYCERAS (RUBIACEAE). Sinara Artico, Danielle Costenaro da Silva

Serafim, Giancarlo Pasquali (orient.) (UFRGS).

A espécie *Psychotria brachyceras* é um arbusto ou arvoreta medindo de 1 a 3 m de altura, ocorre naturalmente no estado do Rio Grande do Sul e produz o alcalóide indólico monoterpênico braquicerina. Este possui atividade anti-inflamatória e o extrato indólico dessa espécie apresenta atividade analgésica inespecífica. O objetivo deste trabalho é construir uma biblioteca de cDNA a partir de folhas de *P. brachyceras*, visando identificar genes envolvidos na biossíntese de alcalóides dessa classe. Foram coletadas 8 estacas contendo de 3 a 4 folhas de *P. brachyceras* de uma mesma planta. Estas foram mantidas por 10 dias em luz branca em uma solução líquida de sais do meio MS (Murashige & Skoog) 0, 1 X. Após este período, metade das plantas foram submetidas à luz UV-C por 24 horas, já que a biossíntese de braquicerina é fortemente ativada nesta condição. Para a extração de RNA total dos tecidos de *P. brachyceras* foi utilizado o reagente comercial *Concert™ Plant RNA Reagent* (Invitrogen). O RNA total obtido foi utilizado para síntese e clonagem de cDNA pelo kit *Creator SMART cDNA Library Construction* (BD Biosciences). Um número muito baixo de clones foi obtido após a primeira tentativa de ligação dos insertos de cDNA ao vetor plasmidial pDNR-LIB. O DNA plasmidial destes clones foi purificado, digerido com enzimas de restrição e suas seqüências determinadas. Novas tentativas serão realizadas e os insertos serão seqüenciados diretamente até atingir o número mínimo de 1.000 seqüências válidas. Estas serão comparadas individualmente aos bancos de dados (EMBL/GenBank) utilizando-se programas computacionais adequados (BLAST). As seqüências serão agrupadas conforme as suas homologias e selecionadas para análises funcionais futuras.