



Evento	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2013
Local	Porto Alegre - RS
Título	Amplificação e sequenciamento do gene codificador da Proteína Facilitadora Transmembrana (MFTP) de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
Autor	JULIANA BOTH ENGEL
Orientador	JEVERSON FRAZZON

A ciclodextrina glicosiltransferase (CGTase) é uma importante enzima capaz de sintetizar moléculas cíclicas, conhecidas como ciclodextrinas (CDs), a partir do amido. Tais moléculas são amplamente utilizadas na indústria de alimentos, pois têm a capacidade de melhorar a estabilidade de aromas, vitaminas, gorduras insaturadas presentes nos alimentos, proporcionando aumento da vida de prateleira dos mesmos, através da formação de complexos hidrofóbicos com tais substâncias. Muitos microrganismos são capazes de produzir a CGTase, tais como a *Stenotrophomonas maltophilia*, que é um microrganismo isolado do solo e também identificado como patógeno hospitalar. Deste microrganismo nosso grupo isolou, clonou e expressou uma CGTase. Entretanto, esta enzima recombinante não pôde ser caracterizada, pois a mesma permaneceu no meio intracelular. Por esse motivo, o seguinte trabalho tem como objetivo identificar, isolar e sequenciar o gene codificador da proteína MFTP, que é uma proteína cuja atividade está relacionada ao transporte de outras proteínas para fora da célula. Assim, especialmente, pretendemos desenvolver um sistema de co-expressão dos genes codificantes das proteínas CGTase e MFTP recombinantes, para que a CGTase possa ser expressa no meio extracelular. Primeiramente, o DNA da *S. maltophilia* foi isolado através do kit de extração de DNA genômico. Para a amplificação de gene *mft*, que possui 1.485 pares de bases, utilizaram-se oligonucleotídeos sintéticos (5'-ggactaatgaatcgtcccgccaaaccg-3' e 5'-cctcgagtcacaccctccggacggg-3') que foram baseados no genoma completo da *S. maltophilia*; os primers continham sítios para enzimas de restrição 5'*Nde*I e 3'*Xho*I. A amplificação por PCR foi realizada sob as seguintes condições: 94°C por 280 segundos seguidos de 35 ciclos a 94°C por 60 segundos, 62°C por 60 segundos e 72°C por 120 segundos. A reação necessitou da presença de 10% de DMSO (Dimetil sulfoxido) para auxiliar a desnaturação de regiões do DNA ricas em CG. Posteriormente, o produto da PCR foi purificado através de um gel de agarose e o tamanho do fragmento foi confirmado. A sequência dos nucleotídeos do gene *mft* foi determinada por sequenciamento do DNA utilizando BigDye ® Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems). Em seguida, a análise dos fragmentos foi processada pelo sequenciador ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer automático (Applied Biosystems), as análises de sequência e comparação foram realizadas utilizando o programa CLUSTAL W e a pesquisa de homologia foi realizada utilizando o algoritmo de pesquisa BLAST, confirmando a identidade do gene.