



B153

CLONAGEM, DISRUPÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO GENE HOMÓLOGO A *SRB10* DO COMPLEXO MEDIADOR DE TRANSCRIÇÃO EM *HANSENULA POLYMORPHA*

Bárbara da Costa Reis Monte-Mór (Bolsista FAPESP) e Prof. Dr. Gonçalo Amarante Guimarães Pereira (Orientador), Instituto de Biologia - IB, UNICAMP

A expressão do gene *MOX* na levedura *Hansenula polymorpha* é essencial ao metabolismo do metanol, sendo a enzima codificada responsável pelo primeiro passo na degradação desta fonte de carbono. Estudos anteriores mostram que o gene *MOX* é fortemente reprimido por glicose. O mecanismo de repressão por glicose tem sido bastante estudado no sentido de se compreender não só suas vias de sinalização celular, mas também seu efeito sobre as proteínas regulatórias, que afetam diretamente a transcrição gênica. O Complexo Mediador é um complexo multiproteico responsável pela integração de sinais regulatórios específicos à maquinaria basal de transcrição. Particularmente, o Mediador tem grande importância no mecanismo de repressão por glicose causada pelo complexo *SSN6-TUP1* e, neste processo, a subunidade *SRB10*, que fosforila o domínio CTD da RNA polimerase, é essencial. Este projeto tem por objetivos clonar e disromper o gene homólogo a *SRB10* do genoma de *Hansenula polymorpha*; além de caracterizar os mutantes obtidos. Usando técnicas de PCR e oligonucleotídeos degenerados foi possível clonar um segmento de DNA com alta similaridade a *SRB10*. A seqüência específica obtida foi utilizada na construção de um cassete para a disrupção e como sonda para a clonagem do gene completo.

Transcrição gênica - Complexo Mediador - *Hansenula polymorpha*