



E0560

**CLONAGEM E EXPRESSÃO DO GENE EPH1 (EPÓXIDO HIDROLASE) DE RHODOTORULA GLUTINIS EM PICHIA PASTORIS**

Raquel Rodrigues Rampasio (Bolsista PIBIC/CNPq) e Profa. Dra. Luciana Gonzaga de Oliveira (Orientadora), Instituto de Química - IQ, UNICAMP

Epóxido-hidrolases são enzimas que agem sobre uma grande variedade de epóxidos convertendo-os aos respectivos dióis. Estas enzimas são de grande interesse de aplicação biotecnológica uma vez que podem levar a formação de dióis quirais (enantioméricos e diastereoisoméricos) como uma alternativa à aplicação dos catalisadores químicos assimétricos. Neste estudo, propomos a clonagem e expressão do gene EPH1, da epóxido-hidrolase de *Rhodotorula glutinis* CCT2182, em *Pichia pastoris*. Como o gene no DNA genômico contém introns, a reconstrução na levedura recombinante envolve uma reação de PCR via a enzima transcriptase reversa, que reconstrói o fragmento de DNA dupla fita a partir do mRNA. Após o isolamento do RNA total, o cDNA foi sintetizado por uma reação de PCR utilizando uma transcriptase reversa. A “biblioteca” de cDNA foi utilizada para amplificar o gene EPH1 por PCR utilizando “primers” específicos para amplificar a seqüência de interesse. Em cada etapa diversas condições foram testadas. Apesar de ainda não ter sido possível a obtenção do gene EPH1, o projeto possibilitou um importante passo no estudo para atingirmos as melhores condições para a extração de RNA, para a obtenção de cDNA e para a realização do PCR.

Epóxido-hidrolase - *Rhodotorula glutinis* - *Pichia pastoris*