



E0559

CLONAGEM E EXPRESSÃO DO GENE SEH (EPÓXIDO HIDROLASE) DE PICHIA STIPTIS EM PICHIA PASTORIS

Larissa Elizabeth Cordeiro Dantas (Bolsista PIBIC/CNPq) e Profa. Dra. Luciana Gonzaga de Oliveira (Orientadora), Instituto de Química - IQ, UNICAMP

Epóxido-hidrolases pertencem a um grupo de enzimas hidrolíticas que agem sobre uma grande variedade de epóxidos convertendo-os aos respectivos dióis quirais (enantioméricos e diastereoisoméricos) atuando como catalisadores químicos assimétricos. Neste estudo realizou-se a clonagem e expressão da epóxido hidrolase (SEH) de *Pichia stipitis*, a qual foi selecionada por um processo de triagem rápida, em *Pichia pastoris*, um sistema altamente eficiente para a expressão de genes de eucariotos. Por meio de técnicas usadas em biologia molecular, foi possível realizar a extração do DNA genômico, amplificação do fragmento de interesse, inserção do gene em um vetor de clonagem, seleção de colônias transformadas que continha o inserto, inserção em vetor de expressão e transformação de *Pichia pastoris*. Foi realizado também o sequenciamento do vetor de clonagem para análise de sítios de restrição. Posteriormente selecionaram-se colônias que apresentaram a inserção do vetor. As células contendo o gene foram então crescidas (pré-cultura) em meio líquido BMGY adicionado de glicerol para obtenção de biomassa, e em seguida suplementadas de metanol para indução da expressão em *Pichia pastoris*.

Epóxido-hidrolase - *Pichia stipitis* - *Pichia pastoris*