



CLONAGEM E EXPRESSÃO EM BACTÉRIA DE HAPLÓTIPOS DO GENE CITHYB DA ROTA DE CAROTENOIDES DE CITROS

CARLOS EDUARDO MACIEL MAIA

INTRODUÇÃO: A citricultura é uma atividade agrícola muito rentável e os citros são uma fonte alimentar amplamente consumida em todo o mundo. A aparência dos frutos é um fator comercial importante e a coloração atrativa está ligada ao conteúdo de carotenoides. Essas substâncias são marcadores da diversidade em *Citrus* e têm relação direta com a qualidade do fruto, além de apresentar ação antioxidante e valor nutricional. **OBJETIVOS:** Motivado por esses aspectos e entendendo que há uma diversidade dentro do gênero *Citrus* para os genes de síntese de carotenoides, entende-se que conhecer as diferentes formas alélicas desses genes pode ser a chave para entender os mecanismos de regulação do gênero e também associá-las a qualidade do fruto quanto a cor. Por isso, caracterizar as formas alélicas de um desses genes, como *CitHYb*, será importante para entender esses mecanismos. **METODOLOGIA:** Esse estudo foi realizado no Centro de Biotecnologia e Genética (CBG) onde foram realizados procedimentos para preparo de células competentes *E. coli* Rosetta (DE3) por choque térmico, transformação de células *E. coli* Rosetta (DE3) com plasmídeo pET28a+*CitHYb*, miniprep (para extração de plasmídeos), digestão dos plasmídeos pET28a+*CitHYb*, Indução e expressão de proteínas do gene *CitHYb* em sistema heterólogo, Western-blot (teste realizado para confirmar a expressão da proteína). **RESULTADOS:** Com a obtenção das células competentes bem preparadas, foi possível transformá-las com a construção contendo o gene de interesse. Após a confirmação da transformação, a proteína foi superexpressa com o uso do agente indutor IPTG à 0,4 mM. Os resultados preliminares indicam que essa proteína heteróloga é expressa em maior parte na fração insolúvel o que gerou resultados inconclusivos, pois a quantidade de proteína expressa foi baixa. **CONCLUSÃO:** Com os resultados apresentados foi possível inferir até então que obteve-se sucesso na maioria das etapas propostas pelo projeto. A transformação da bactéria e inserção do gene de interesse. A proteína de interesse foi expressa em sistema, porém em baixa quantidade. Esses resultados preliminares até então obtidos serão essenciais para a caracterização do gene *CitHYb* e seu nível de influência na rota dos carotenoides, conclusões essas que só poderão ser tiradas a partir análises futuras.

Palavras-chave: Biologia, Genética, Melhoramento, Citros, Agricultura.