

115

**ISOLAMENTO DE GENES ENVOLVIDOS NA BIOSÍNTESE DE ALCALÓIDES E TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE *PSYCHOTRIA BRACHYCERAS* (RUBIACEAE).** Maraschin, Felipe S., Pasquali, Giancarlo (Laboratório de Biologia Molecular Vegetal, Centro de Biotecnologia do Estado do Rio Grande do Sul, UFRGS).

O gênero *Psychotria* tem sido alvo de várias investigações químicas e farmacológicas devido à presença, em um número diverso de espécies, de alcalóides bioativos de importância terapêutica. Estudos prévios demonstraram que extratos alcaloídicos de espécies de *Psychotria* apresentam uma forte ação opióide-analgésica. Este trabalho tem por objetivo isolar e caracterizar a expressão de genes-chave da biossíntese destes alcalóides indólicos terpênicos de *Psychotria*, especialmente os genes codificadores da triptofano descarboxilase (TDC) e da strictosidina sintase (STR). Visando modular estas expressões gênicas para o aumento da produção total de alcalóides, este projeto intenciona, também, viabilizar a transformação genética de tecidos de *Psychotria* e a regeneração de plantas transgênicas. Por meio do emprego da reação em cadeia da DNA-polimerase (PCR) e oligonucleotídeos sintéticos (*primers*) definidos a partir de sequências de *tdc* e *str* conservadas e disponíveis no EMBL/GenBank, produtos de amplificação para ambos os genes foram obtidos de DNA genômico de *P. brachyceras*. O fragmento único gerado pela amplificação com os primers para *tdc* foi clonado no vetor pCRBlunt (Invitrogen) para o futuro sequenciamento, enquanto 3 produtos de amplificação com os primers para *str* serão também clonados e sequenciados para confirmação da sua identidade. Utilizando os fragmentos clonados de *tdc* e *str* como sondas, clones genômicos serão esquadrihados a partir de bancos enriquecidos de DNA. Com vistas à obtenção de tecidos transgênicos de *Psychotria*, foi primeiramente determinado que o antibiótico higromicina é um melhor agente seletivo do que a canamicina para a seleção de tecidos (calos) transformados. A seguir, calos derivados de folhas foram infectados com *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404::pMOG22Gus. A atividade transitória de *gusA* foi observada nos calos infectados uma semana após a infecção. Após 1 mês de seleção em higromicina, foram obtidos calos totalmente transformados. Diferentes condições de cultivo *in vitro* serão testadas para viabilizar a regeneração de plantas transformadas. (PADCT III e Fapergs).