

100

EXPRESSÃO DO GENE CHIT1 DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO METARHIZIUM ANISOPLIAE EM PICHIA PASTORIS. *Leonardo Barbosa Leiria, César Milton Baratto, Charley Christian Staats, Marilene Henning Vainstein, Augusto Schrank (orient.)* (Departamento de Biologia

Molecular e Biotecnologia, Instituto de Biociências, UFRGS).

O fungo filamentosso *Metarhizium anisopliae* possui um grande potencial para o controle biológico de insetos-praga e carrapatos na agricultura e na pecuária. O fungo penetra ativamente pela cutícula do hospedeiro utilizando processos mecânicos, com a formação de estruturas de parasitismo, e hidrólise enzimática. Quitinases, assim como outras hidrolases, estão provavelmente relacionadas ao processo de morfogênese e de infecção de *M. anisopliae*. As seqüências genômica e de cDNA do gene *chit1*, que codifica para uma endoquitinase de *M. anisopliae* (CHIT 42) foi anteriormente determinada pelo grupo. A massa molecular estimada da proteína madura é de 42 kDa. Entretanto, não há informações sobre sua participação na infecção, seqüências regulatórias e tampouco sobre os elementos envolvidos em sua ativação. Com a finalidade de obtermos um novo modelo para expressão de forma heteróloga de proteínas de *M. anisoplaei* e de obtermos a quitinase CHIT42 solúvel em quantidade suficiente para a sua caracterização, a enzima será expressa em *Pichia pastoris*, um sistema de expressão eucariótico. Para tal, foram efetuadas a clonagem do gene *chit1* no vetor pHIL-S1, denominado pHILChit1, e a sua transformação na levedura. A expressão da quitinase em *P. pastoris* além de facilitar a purificação para sua caracterização, irá auxiliar na obtenção de anticorpos para a imunolocalização, que permitirá verificar o seu envolvimento na infecção do fungo durante a penetração no hospedeiro. (PIBIC-CNPq).