

### **Clonagem de Fragmento do Gene *OppA* de *A. hydrophila***

Shana Ferrarini (PIBIC-CNPq), Jucimar Zacaria, Sergio Echeverrigaray, Ana Paula Longaray Delamare (co-orientadora), Sergio Olavo Pinto da Costa (orientador) - [shanafbio@hotmail.com](mailto:shanafbio@hotmail.com)

Sistemas de transportes são essenciais para o trânsito de substâncias através da membrana plasmática bacteriana. Dentre estas substâncias destacam-se os nutrientes essenciais ao crescimento bacteriano, os quais é transportado por sistemas do tipo ABC. Dentre os sistemas ABC encontra-se aquele que transporta oligopeptídeos (*opp*), o qual é formado por uma proteína de ligação periplasmática (*oppA*) que apresenta os peptídeos para uma porina específica formada por duas proteínas transmembranas e uma ATPase. O sistema *opp* tem sido associado a diferentes aspectos da fisiologia, patogenicidade, quorum-sensing, diferenciação de esporos, resposta ao estresse e resistência a antibióticos. O presente trabalho objetivou a obtenção de uma construção envolvendo parte do gene *oppA* para posterior utilização desta como ferramenta para estudo da influência do transporte de oligopeptídios na fisiologia e resposta ao estresse em *A. hydrophila*. Para tanto *A. hydrophila* ATCC7966 foi crescida em meio LB sob agitação a 37°C por 18h. A amostra foi diluída na proporção de 1:40 em água Milli-Q e 4µL desta foi utilizada para a reação de PCR. A amplificação foi realizada em termociclador MJ Research PTC100. A região amplificada correspondeu a um segmento com tamanho de 542pb, situada entre as posições 308-329 (forward) e 829-850 (reverse) do gene *oppA*. Este fragmento amplificado foi clonado no vetor pJET e posteriormente transferido para células competentes de *E. coli* DH5α. Após a transformação foram obtidas 98 transformantes. Estes transformantes foram testados por PCR quanto à presença do fragmento, sendo selecionados seis clones. A presença e orientação do fragmento clonado no vetor foram confirmadas através da extração do DNA plasmidial e subsequente clivagem do mesmo com a enzima de restrição BglII. Com base nos resultados obtidos foi possível a criação de uma ferramenta de clonagem envolvendo parte do gene *oppA* com potencial aplicação futura para o estudo do sistema de transporte de oligopeptídios em *Aeromonas*.

Palavras-chave: *Aeromonas*, gene *oppA*.

Apoio: UCS, CNPq.

XVII Encontro de Jovens Pesquisadores – Setembro de 2009  
Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa  
Universidade de Caxias do Sul