



## AMPLIFICAÇÃO E CLONAGEM DO PROMOTOR BETACTINA PARA O DIRECIONAMENTO DA EXPRESSÃO GÊNICA EM *Gallus gallus*

**Autor(es):** SILVA, Evelise Sampaio; SIMIONATTO, Simone; CAMPOS, Vinícius F.; NUNES, Fabrício Domenech; COLLARES, Tiago; DESCHAMPS, João Carlos

**Apresentador:** Evelise Sampaio da Silva

**Orientador:** João Carlos Deschamps

**Revisor 1:** Luciano da Silva Pinto

**Revisor 2:** Claudia Pinho Hartleben Fernandes

**Instituição:** Universidade Federal de Pelotas

### Resumo:

O aumento da procura global por proteínas terapêuticas recombinantes leva ao desenvolvimento de alternativas de produção, incluindo a utilização de animais transgênicos como biorreatores. O direcionamento da expressão de genes de interesse em tecidos e fluídos específicos para a produção de proteínas de interesse farmacológico depende diretamente dos conhecimentos gerados em estudos de promotores gênicos. Em técnicas de transgênese animal utiliza-se como controle o gene da betactina, uma proteína expressa em todas as células eucarióticas. Por ser um componente citoplasmático abundante em células eucarióticas, esse gene tem sido utilizado como um promotor mostrando melhor desempenho que o promotor citomegalovírus (CMV). Este estudo teve como objetivo amplificar o promotor do gene da betactina e cloná-lo no vetor pZsGreen (Clontech®). O vetor de expressão utilizado apresenta um gene que codifica a proteína fluorescente Zsgreen. Foram utilizadas informações disponíveis no GenBank para a seleção da sequência promotora da betactina. Os primers utilizados na Reação em Cadeia da PCR (PCR) foram desenhados com o auxílio do programa VectorNTI. Um fragmento de 390 pb foi amplificado por PCR e submetido a uma digestão com as enzimas EcoRI e BamHI. A ligação do inserto ao vetor foi realizada com o auxílio da enzima T4 DNA ligase (Invitrogen®). A molécula recombinante construída foi utilizada na transformação de *Escherichia coli* TOP10 eletrocompetente. Os clones recombinantes foram selecionados através de uma triagem rápida de colônias e, após, foram cultivados em meio líquido para extração de DNA plasmidial. Os clones recombinantes selecionados, caracterizados por enzimas de restrição Este estudo possibilitou a construção de um vetor recombinante contendo o promotor Betactina, o qual permite a expressão de genes em todas as células somáticas eucarióticas. Este plasmídeo recombinante construído auxiliará os estudos de geração de aves transgênicas que possam ser utilizadas na produção de biofármacos.