

187

CONSTRUÇÃO DE UMA BIBLIOTECA DE FRAGMENTOS DE LAMBDA EM *Escherichia coli*. Ana Christina de Oliveira Dias, Jocelei M. Chies, Hélio M. M. Maia, Spartaco Astolfi-Filho*, (Cenbiot-enzimas-Centro de Biotecnologia - instituto de Biociências-UFRGS, *Instituto de Ciências Biológicas-FUA).

A identificação de endonucleases de restrição com características distintas das até hoje descritas é o propósito de um levantamento que está sendo realizado por nós em diferentes regiões da Bacia Amazônica. Muitos métodos têm sido empregados para identificar novas enzimas de restrição do tipo II. O presente trabalho visa a construção de uma pequena biblioteca de fragmentos de DNA do bacteriófago Lambda clivado com a endonuclease de restrição Hind III no plasmídeo multicópia pAC92 portador do gene que codifica para a alfa-amilase de *Bacillus subtilis* que contém um múltiplo sítio de clonagem. O objetivo deste trabalho é a obtenção de grandes quantidades de DNA para facilitar a identificação de novos sítios de restrição. A escolha do plasmídeo pAC92 se deve ao fato de que ele atua como um vetor de clonagem direta possibilitando a seleção positiva dos recombinantes em placas de ágar contendo amido. Deste modo, os clones que carregam os plasmídios recombinantes serão facilmente identificados pelo seu fenótipo não amilolítico resultante da inativação por inserção de fragmentos de DNA na sequência estrutural do gene. Esta característica é facilmente identificável pela coloração com vapores de iodo.