

097

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE PROMOTORA DO OPERON ORF2NIFUSVORF4 DE AZOSPIRILLUM BRASILENSE NA PRESENÇA DA PROTEÍNA NIF A. *Fernando Hayashi Sant Anna, Irene Silveira Schrank (orient.)* (Departamento de Biologia Molecular e Biotecnologia, Instituto de Biociências, UFRGS).

Embora a atmosfera terrestre seja composta de 78% de nitrogênio, a maioria dos seres vivos não têm a capacidade de utilizar diretamente o nitrogênio atmosférico para sintetizar aminoácidos e outras substâncias orgânicas essenciais para vida. Existem bactérias, denominadas diazotróficas, que são capazes de reduzir o nitrogênio atmosférico em amônia, por intermédio de um complexo enzimático Nitrogenase. Esse processo é chamado de fixação biológica do nitrogênio e permite que espécies vegetais tenham acesso ao nitrogênio. Os genes envolvidos no processo de fixação do nitrogênio foram chamados de genes nif e foram caracterizados em diferentes bactérias, incluindo a espécie *Azospirillum brasilense*. Os promotores nif específicos possuem uma região para ligação da RNA polimerase dependente do fator sigma 54 e uma região ativadora denominada UAS, onde se liga a proteína ativadora NifA. O presente trabalho visa determinar a atividade do promotor do operon ORF2nifUSVORF4 na presença da proteína NifA. Portanto, foi isolada a região promotora deste operon, com objetivo de clonar no plasmídeo pMC1403. Este plasmídeo contém o operon lac sem sua região promotora, podendo usar o gene lac Z como gene-repórter. O plasmídeo recombinante será transformado em uma linhagem de *Escherichia coli* que contém um plasmídeo que expressa constitutivamente a proteína NifA. Assim, será possível determinar a atividade do promotor do operon ORF2nifUSVORF4 na presença da proteína NifA. (PROPESQ/UFRGS).