

363

CARACTERIZAÇÃO DE UM GENE RELACIONADO COM A FAMÍLIA DE ATIVADORES DE TRANSCRIÇÃO LysR NA BACTÉRIA DIAZOTRÓFICA *Azospirillum brasilense*. Samanta Bolzan de Campos, Carlos Blaha, Irene S. Schrank, Luciane M. P. Passaglia. (Depto de Genética e

Biologia Molecular e Centro de Biotecnologia, UFRGS)

O nitrogênio é um fator limitante na produção agrícola, representando um grande custo no uso de adubos. Uma solução para este problema é a utilização de microrganismos diazotróficos, que fornecem, naturalmente, o nitrogênio às plantas, através do processo de fixação biológica do nitrogênio. Este processo é catalisado pelo complexo enzimático Nitrogenase. As bactérias do gênero *Azospirillum* são diazotróficas e de grande interesse, pois são encontradas em associação com gramíneas de importância econômica, no solo brasileiro. Uma região genômica de 12,3 Kb foi isolada através de mutação induzida pela inserção do transposon Tn5 na linhagem Sp7 de *A. brasilense*, e, neste fragmento, foram encontradas duas fases abertas de leitura (ORF): ORF281Ab e ORFATRAb. As ORFs apresentaram sentidos contrários de transcrição e a sequência deduzida de aminoácidos de uma delas (ORFATRAb) compartilhou similaridade com a família de ativadores de transcrição LysR. Com a finalidade de isolar a região reguladora desta ORF foi realizada uma reação de amplificação (PCR) com oligonucleotídeos específicos para a região reguladora. O produto de amplificação, de aproximadamente 800 pb, foi purificado e ligado ao vetor pUC18, clivado com *Sma*I e transformado em *Escherichia coli* XL1. as colônias contendo possíveis plasmídeos recombinantes tiveram seus DNAs plasmidiais extraídos e clivados para a liberação do fragmento clonado. Os plasmídeos que apresentarem fragmentos com o tamanho esperado quando clivados com as enzimas de restrição *Eco*RI e *Pst*I, foram hibridizados, utilizando como sonda o fragmento purificado da amplificação por PCR. Os clones com sinal de hibridização positiva serão sequenciados para certificar a orientação da clonagem. Os fragmentos que apresentarem a orientação desejada serão clonados no vetor pMC1403 para posterior verificação da atividade reguladora dessa região. (CNPq, PIBIC/UFRGS)