

439

CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECA PARA SEQÜENCIAMENTO DO GENOMA DE UMA BACTÉRIA MAGNETOTÁCTICA. *Caroline Thum, Fabiano Pimentel Torres, Ulysses Lins, Carolina Keim, Marcos Farina, Henrique Bunselmeyer Ferreira, Ana Tereza Ribeiro de Vasconcelos, Arnaldo Zaha (orient.) (UFRGS).*

As bactérias magnetotáticas respondem a campos magnéticos devido à presença de organelas intracelulares denominadas magnetossomos, compostas por cristais férricos. Uma bactéria magnetotática foi isolada na Lagoa de Araruama, RJ, onde vive em condições de hipersalinidade e apresenta uma característica única que é a de manter-se na forma de agregados multicelulares durante todo o ciclo de vida. Para um melhor conhecimento da biologia desta bactéria, está sendo iniciado um trabalho visando ao seqüenciamento do seu genoma. Para tanto, estão sendo construídas bibliotecas genômicas em vetor plasmidial. O DNA total da bactéria foi fragmentado por nebulização, para produção de fragmentos na faixa de tamanho de 2, 0 a 2, 5 kb. Estes fragmentos, recuperados de gel de agarose por eletroeluição, tiveram suas extremidades reparadas por tratamento com o fragmento de Klenow da DNA-polimerase I de *Escherichia coli* e com a DNA-polimerase de T4, seguido pela fosforilação das extremidades 5' por tratamento com a polinucleotídeo-quinase de T4. Os fragmentos foram então ligados ao vetor plasmidial pUC18, previamente linearizado por clivagem com *Sma*I. O produto da ligação foi utilizado na transformação de células de *E. coli* XL1-Blue. A eficiência da clonagem dos fragmentos foi inicialmente avaliada por PCR utilizando iniciadores complementares a seqüências do vetor e, posteriormente, as colônias foram transferidas para placas de 96 poços e estocadas a -20°C. Para uma avaliação preliminar das seqüências clonadas, foram feitas preparações de DNA plasmidial de 1536 colônias (16 placas), cujos insertos estão agora sendo seqüenciados e analisados.