

455

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DAS ENZIMAS ENVOLVIDAS NA BIOSÍNTESE DO COFATOR FE-S EM EUCALYPTUS GRANDIS.** Agnes Nogueira Gossenheimer, Luisa Abruzzi de Oliveira, Rosele Rocho, Christine Bierhals, Giancarlo Pasquali, Jeverson Frazzon (orient.) (UFRGS).

Os agrupamentos de ferro-enxofre [Fe-S] são quimicamente simples, mas funcionalmente versáteis. Trata-se de grupos prostéticos de proteínas envolvidos nos processos básicos da vida incluindo fotossíntese, respiração e fixação de nitrogênio. Um crescente número de genes envolvidos na biossíntese dos agrupamentos [Fe-S] tem sido identificado. Nos últimos anos, mais de 100 proteínas que contém o cofator [Fe-S], geralmente chamadas de proteínas [Fe-S], foram descritas e a diversidade funcional do cofator associado é notável. Além disso, estes genes mostram-se conservados em bactérias, fungos, animais e plantas, e muitos dos produtos gênicos estão relacionados, o que indica o envolvimento de mecanismos similares nos passos básicos do processo de montagem, incluindo as proteínas mitocondriais NFS, ISU, NFU4 e ISA1. No subprojeto "Seqüenciamento do Transcritoma de *Eucalyptus*" do Projeto Genolyptus, cerca de 100.000 ESTs válidas foram depositadas nas centrais de bioinformática do Projeto, incluindo 22.000 seqüências únicas. O projeto se propõe a realizar a clonagem, superexpressão e purificação das proteínas NFS, ISU, NFU4 e ISA1 de *Eucalyptus grandis*. A validação do transcritoma de *Eucalyptus* foi realizada pela busca de seqüências homólogas no banco de dados do Projeto Genolyptus. Das seqüências gênicas presentes em *Arabidopsis thaliana* que apresentavam homologia, quatro foram selecionadas por estarem envolvidas diretamente na biossíntese dos agrupamentos [Fe-S]: NFS, ISU, ISA1 e NFU4. Foram projetados *primers* específicos para cada um dos genes, contendo sítios de restrição *NdeI* e *BamHI* nas extremidades. As seqüências gênicas dessas enzimas estão sendo amplificadas por PCR e os produtos da amplificação serão ligados ao vetor de expressão pET23a+ nos sítios de restrição *NdeI* e *BamHI*, respectivamente. Para confirmar a clonagem, os clones serão re-seqüenciadas e posteriormente será realizada a superexpressão das proteínas na célula hospedeira *Escherichia coli*. (PIBIC).