

182

DESENVOLVIMENTO DE VETORES PARA USO NO SILENCIAMENTO DE GENES EM ARROZ. *Monica de Medeiros Silva, Sandra Maria de Souza, Marcelo Gravina de Moraes (orient.) (UFRGS).*

Os conhecimentos gerados pelos projetos de seqüenciamento de genomas abriram uma nova possibilidade para a compreensão de mecanismos biológicos a nível molecular. Entretanto, somente as seqüências não fornecem informação suficiente sobre a função dos genes. Diversas técnicas têm sido empregadas para associar funções aos genes seqüenciados. Entre essas, o silenciamento gênico pós-transcrição (PTGS) apresenta vantagens importantes em termos de eficiência para análise funcional. O objetivo desse trabalho foi construir vetores de silenciamento para o estudo de genes em arroz. O vetor pLITMUS 38i foi utilizado como base para as construções contendo 290 pb do cDNA codificante de ferritina ou 202 pb do cDNA codificante da enzima fitoeno dessaturase (PDS), ambos amplificados através de RT-PCR. Os cDNAs foram inseridos no sítio de clonagem de pLITMUS 38i flanqueados por 2 promotores T7 que possibilitam a produção de RNA fita dupla (dsRNA). Após a reação de ligação, os produtos resultantes foram utilizados para transformação de células de *Escherichia coli* HT115 (DE3) eletrocompetentes, uma linhagem mutante que não degrada dsRNA. As colônias obtidas foram analisadas através de PCR, e as recombinantes foram utilizadas tanto para produção de dsRNA *in vivo* em meio de cultura LB, na presença de IPTG, quanto para a produção de dsRNA *in vitro*, através da reação de síntese pela T7 RNA polimerase. A eficiência de síntese de dsRNA foi avaliada no caso do cDNA de ferritina tanto *in vitro* como *in vivo*, com rendimentos de 7,4 µg de dsRNA por µg de cDNA de ferritina e 1,7 µg por 10¹⁰ células de *E. coli*, respectivamente. Estão sendo executadas as análises que visam avaliar o efeito dos dsRNAs em plantas de arroz através do silenciamento do mRNA e de alterações fenotípicas. (Fapergs).