

036

**CARACTERIZAÇÃO DA REGIÃO REGULATÓRIA DO OPERON *fixABC* EM *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*.** Jeferson Gross, Jeverson Frazzon<sup>1</sup>, Irene S. Schrank<sup>2</sup>, Luciane Maria Pereira Passaglia .

(Departamento de Ciências dos Alimentos<sup>1</sup>, Departamento de Biotecnologia<sup>2</sup>, Departamento de Genética , Centro de Biotecnologia, UFRGS).

Estudos genéticos dos processos de fixação do nitrogênio em bactérias diazotróficas vem continuamente crescendo devido a importância destes microorganismos ao ecossistema, bem como, pela possibilidade de uso destes como alternativa ao processo químico industrial empregado em fertilizantes. Os genes *fixABC* desempenham papel importante no processo de fixação do nitrogênio na bactéria *A. brasilense*. Estando eles organizados em um operon, são regulados de forma conjunta por proteínas que se ligam à seqüências de nucleotídeos localizadas anteriormente ao início da sua codificação no DNA da bactéria. A caracterização desta região controladora se faz pela técnica de seqüenciamento que determina a disposição dos nucleotídeos constituintes, podendo-se verificar, assim, a existência de seqüências regulatórias e se estas correspondem às já conhecidas envolvidas no processo de controle da expressão gênica da fixação do nitrogênio, em especial as seqüências -12 a -24 e a UAS. A clonagem dos genes *fix* é um passo precedente à tarefa de seqüenciamento. Com este fim foram obtidos no nosso laboratório 9 plasmídios recombinantes contendo os genes *fix*. A partir destes já se conseguiu seqüenciar boa parte do operon. Atualmente estamos trabalhando no seqüenciamento de áreas dentro do *fixA*, buscando aproximação à região regulatória que é o principal objetivo deste trabalho. Após a identificação da disposição dos nucleotídeos do segmento de DNA da região regulatória e a caracterização do tipo de seqüências controladoras lá existentes, se procederá ao teste da atividade regulatória destes segmentos. Para isto se fará a subclonagem desta região no plasmídio pMC1403 portador do gene da  $\beta$ -Galactosidase. A funcionalidade do produto deste gene caracterizará a atividade da região regulatória do operon.