

095

PROJETO GENOLYPTUS E O SEQÜENCIAMENTO DO TRANSCRIPTOMA DE EUCALYPTUS: SEGUNDO GRUPO DE BIBLIOTECAS DE EXPRESSÃO.

Daniela Muller Kurban, Rochele Patrícia Kirch, Adriane Klamt, Joséli Schwambach, Rosana Vianello Brondani, Alexandre Siqueira Guedes Coelho, Sérgio Hermínio Brommoschenkel, Arthur Germano Fett Neto, Júlio César de Mattos Cascardo, Giancarlo Pasquali (orient.) (Departamento de Biologia Molecular e Biotecnologia, Instituto de Biociências, UFRGS).

O objetivo central do Projeto “GENOLYPTUS: Rede Brasileira de Pesquisa do Genoma de Eucalyptus” é o descobrimento, o seqüenciamento, o mapeamento e a determinação da função de genes de importância econômica de diferentes espécies de Eucalyptus, visando a incorporação de tecnologias de genética genômica nos programas de melhoramento e produção florestal. O Subprojeto “Seqüenciamento do Transcriptoma de Eucalyptus” intitula o trabalho maciço e sistemático de seqüenciamento de 150.000 clones de cDNA a partir de diversas bibliotecas de expressão, algumas delas normalizadas. O objetivo é a identificação de todos os estimados 25 a 30 mil genes do eucalipto, com ênfase especial em genes envolvidos na formação da madeira. O segundo grupo de seis bibliotecas de expressão foi construído a partir de mRNA extraído de tecidos de *E. grandis* (flores em quatro estádios do desenvolvimento, plântulas inteiras tratadas com 20 diferentes estímulos, folhas jovens infectadas por Puccinia), mistura de xilemas, floemas e raízes de diversas espécies de Eucalyptus. A extração de RNA total de todos os tecidos rendeu quantidades médias de 0,5 mg e de ótima qualidade, conforme medidas espectrofotométricas e visualização em géis de agarose após eletroforese. A purificação de mRNA permitiu a obtenção de quantidades de 0,5 a 9 (g de mRNA entre os diferentes tecidos. A síntese de cDNAs e a ligação ao vetor pSPORT1 (Invitrogen) rendeu bibliotecas primárias (não amplificadas) com títulos que variaram de $1,1 \times 10^5$ a $2,4 \times 10^6$ ufc/(g de vetor. Os tamanhos de insertos variaram de 500 a 2.300 pb. O seqüenciamento automático e a análise das seqüências geradas revelaram que todas as bibliotecas construídas, com exceção da biblioteca de mistura de xilemas, apresentaram baixos índices de vetores vazios e redundância, e foram validadas para o seqüenciamento maciço pelos diferentes grupos participantes. A biblioteca da mistura de xilemas foi invalidada e será reconstruída. (CNPq-Proj. Integrado).