

Sessão 43

Genética Molecular C

400

ATIVIDADE IN VIVO DE PROMOTORES DE MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE: AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA REPORTER. Luciano Antonio Reolon, Shana de Souto Weber, Sérgio Ceroni da Silva, Irene Silveira Schrank (orient.) (UFRGS).

Mycoplasma hyopneumoniae é o agente etiológico da pneumonia enzoótica suína (PES), uma doença que tem sido considerada uma das principais causas de perdas econômicas na suinocultura. Atualmente, estão disponíveis os dados referentes ao seqüenciamento de três cepas de *M. hyopneumoniae*. Porém, pouco se sabe sobre as regiões que regulam a transcrição em *M. hyopneumoniae*, e devido a característica de serem organismos A+T ricos a predição destas regiões *in silico* tem sido dificultada pois são baseadas predominantemente nos dados disponíveis para *E. coli*, como por exemplo o TATA box. Além disto, a falta de regiões promotoras caracterizadas experimentalmente e de um sistema que possibilite o estudo destas regiões *in vivo* são outros fatores limitantes. No entanto foi desenvolvido, para *Mycoplasma pneumoniae*, um plasmídeo denominado pGP353, que possibilitou a análise de regiões promotoras *in vivo* nesse microorganismo, através da fusão destas com o gene repórter *lacZ*. Nosso trabalho tem como objetivo principal avaliar a aplicabilidade do plasmídeo pGP353 no estudo e caracterização *in vivo* de regiões promotoras de *Mycoplasma hyopneumoniae*, além de observar a funcionalidade da região à montante dos genes *dnaK* e *uvrC* deste mesmo organismo. O promotor do gene da espiralina, sabidamente funcional em outras espécies, foi amplificado por PCR e os fragmentos de 321 pb foram clonados no vetor pUC18 e posteriormente sub-clonados no plasmídeo pGP353 e transformados em *M. hyopneumoniae*. Paralelamente foi feita a amplificação da região à montante dos genes *dnaK* e *uvrC* de *M. hyopneumoniae*, gerando fragmentos de 642 pb, que foram clonados em pUC18, sub-clonados em pGP353 e transformados em *M. hyopneumoniae*. A presença de células de *M. hyopneumoniae* transformantes, expressando a resistência a gentamicina foi confirmada por PCR.