

126

**DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE PROMOTORA DO OPERON *nifENXorf3* DE *Azospirillum brasilense*.**

Tatiana A. B. Bressel<sup>2</sup>, Deise P. Potrich<sup>1</sup>, Carlos A. G. Blaha<sup>1</sup>, Luciane M. P. Passaglia<sup>1</sup>, Jeverson Frazzon<sup>3</sup> & Irene S. Schrank<sup>2</sup>. Depto de Genética<sup>1</sup> (IB) Centro de Biotecnologia<sup>2</sup> (IB) e Depto de Ciências dos Alimentos<sup>3</sup>

(ICTA) UFRGS

A fixação biológica do nitrogênio é catalisada pela nitrogenase, um complexo metaloenzima composto por duas proteínas. A complexidade bioquímica do sistema nitrogenase é refletido em um grande número de genes necessários para tornar o complexo ativo. Os genes responsáveis pela fixação biológica do nitrogênio são denominados *nif*. Os promotores *nif* específicos são caracterizados por apresentarem uma seqüência consenso nas posições -24 (GG) e -12 (GC), evidenciando o local de ligação para a RNA polimerase dependente do fator sigma alternativo ( $\sigma^{54}$ ). A ativação destes promotores é em geral, dependente da presença da proteína NIFA, que se liga ao DNA numa região ativadora denominada UAS. A expressão *in vivo* da atividade das regiões promotoras tem sido realizada pela fusão entre a região promotora e diferentes genes "reporter", sendo um exemplo o gene *LacZ*. Em *Azospirillum brasilense* fusões na região promotora dos operons *nifHDKorf1Y* e *orf2nifUSVorf4* com o gene *lacZ* foram obtidas. Neste trabalho demonstramos a fusão da região promotora do operon *nifENXorf3* com o gene reporter *lacZ*. Para isto, a região promotora foi isolada pela reação em cadeia da polimerase (PCR), gerando um fragmento de DNA de 590 pares de bases e clonada no vetor pMC1403. Para testar a necessidade da proteína NIFA na ativação da transcrição, o plasmídeo denominado pMC590 foi transformado em linhagens de *Escherichia coli* MC1061 contendo o plasmídeo pCK3, o qual expressa a proteína NIFA constitutivamente. Foi usado como controle negativo a mesma linhagem bacteriana sem o plasmídeo pCK3 na transformação. Apoio Financeiro: FAPERGS e CNPQ-PIBIC/UFRGS