

Os genes responsáveis pelo processo de fixação biológica do nitrogênio são regulados a nível de transcrição pela proteína NifA. O gene que codifica esta proteína, nifA, foi clonado de diversas bactérias diazotóficas permitindo um estudo mais detalhado destas proteínas. Em *A. BRASILENSE*, uma bactéria que fixa nitrogênio em associação com gramíneas de importância econômica, foi demonstrado que NifA é sensível ao oxigênio. Este trabalho visa o isolamento de NifA de forma pura para ser utilizada em diversos experimentos como ligação ao DNA em gel, "footprinting" e mesmo para produção de anticorpos contra NifA. Um fragmento de 2,1 Kb SmaI/SalI contendo toda região codificadora de NifA de *A. BRASILENSE* foi clonada no vetor pGEX-4T-1 SmaI/SalI em fase com a proteína GST do vetor. O plasmídeo recombinante foi digerido com enzimas de restrição para o correto posicionamento do fragmento. Posteriormente foram realizados ensaios de indução da proteína de fusão GST-NifA variando o tempo de indução das culturas de 2h à 24h e a temperatura de crescimento das bactérias. Posteriormente, foi então, criada a bactéria contendo o clone recombinante nas condições ótimas e realizada o ensaio de purificação da proteína de fusão em coluna contendo anticorpo contra GST. (CNPq e FAPERGS)