

Sessão 14
BIOLOGIA MOLECULAR

155

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO GENE *NIFM* DE *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*. *Lizelle M. Berrutti, D. P. Potrich, A. G. Fraga, I. S. Schrank e L. M. P. Passaglia.* (Departamento de Genética, Instituto de Biociências, UFRGS).

AZOSPIRILLUM BRASILENSE é uma bactéria fixadora de nitrogênio de vida livre, que é capaz de manter relação associativa com diversas gramíneas de elevado interesse econômico. Sabe-se que neste organismo a conversão de nitrogênio molecular à amônia é catalisada pelo complexo enzimático Nitrogenase, cuja regulação e expressão dependem da ação conjunta de pelo menos vinte genes *nif*. A Nitrogenase é composta por duas subunidades protéicas denominadas Fe-proteína e MoFe-proteína. O produto do gene *nifM* é necessário para o processamento e estabilização da Fe-proteína. Utilizando a técnica de mutagenese sítio direcionada com o transposon Tn5 foram isolados vários mutantes Nif- de *A. BRASILENSE*. Com o objetivo de isolarmos a região correspondente ao gene *nifM*, o DNA de um mutante Nif- foi extraído, digerido com EcoRI e hibridizado com um fragmento interno do Tn5. O fragmento de DNA do mutante, contendo o transposon inserido, foi subclonado e mapeado com enzimas de restrição. Os fragmentos pequenos foram novamente subclonados em vetores Bluescript e seqüenciados. Nos fragmentos de 3, 0Kb e 0, 8Kb, adjacentes, foi encontrada uma similaridade significativa a nível de aminoácidos com a proteína NifM de outras bactérias diazotróficas. (CNPq)