

AVALIAÇÃO TRANSCRICIONAL, CLONAGEM E EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS NFS1 E ISA1 DE EUCALYPTUS GRANDIS. Eduardo Preusser de Mattos, Christine Garcia Bierhals, Luisa Abruzzi de Oliveira, Rogério Margis, Giancarlo Pasquali, Jeverson Frazzon (orient.) (UFRGS).

Cofatores ferro-enxofre (Fe-S) são grupos prostéticos atuantes em diversos processos celulares, como o controle da estrutura protéica e a modulação da regulação gênica. Esses agrupamentos mostram-se fundamentais nos mecanismos básicos de sustentação da vida na Terra, incluindo a fixação de nitrogênio, fotossíntese e respiração. Nesse contexto, plantas são únicas no modo como a biogênese de proteínas Fe-S é compartimentalizada e adaptada às exigências de organismos eucarióticos e fotossintéticos. O presente estudo analisa os genes *NFS1* e *ISA1*, ambos mitocondriais, atuantes na formação de cofatores Fe-S em *Eucalyptus grandis*. A enzima NFS1 apresenta características de cisteína desulfurase, enquanto ISA1 funciona como um arcabouço na associação dos cofatores Fe-S. Plântulas de *E. grandis* foram submetidas a diferentes tratamentos e analisadas por PCR quantitativo de tempo real (qRT-PCR) para avaliar os níveis de expressão gênica em cada cultivo. Subseqüentemente, os cDNAs dos dois genes, provenientes da biblioteca de transcritos do projeto Genolyptus foram usados para a amplificação dos genes *NFS1* e *ISA1* por PCR. O produto da reação foi clivado nos sítios de restrição *NdeI* e *BamHI* para clonagem no vetor de expressão pET23a+. Os plasmídeos recombinantes serão transformados em bactérias *Escherichia coli* para superexpressão das proteínas NFS1 e ISA1. Os resultados obtidos com a análise transcricional dos dois genes por qRT-PCR permitiram avaliar que maiores níveis transcricionais ocorreram em plântulas submetidas a estresse pelo frio (4° C). Embora preliminares esses resultados sugerem que os genes *NFS1* e *ISA1* de *E. grandis* devem estar relacionados a respostas celulares contra o frio, provavelmente devido a aumento no metabolismo do enxofre e indução de enzimas antioxidantes, além do aumento da expressão das proteínas Fe-S relacionadas especialmente à respiração.