

458

**CLONAGEM E CARACTERIZAÇÃO DE GENES GLNB E GLND DE AZOSPIRILLUM AMAZONENSE.** *Fernando Hayashi Sant Anna, Irene Silveira Schrank (orient.) (UFRGS).*

O nitrogênio é um elemento que compõe moléculas de importância biológica. Apesar de ser abundante na atmosfera terrestre, o nitrogênio se encontra numa forma quimicamente inerte, inacessível aos seres vivos. As bactérias diazotróficas possuem um complexo enzimático Nitrogenase, capaz de converter o nitrogênio molecular em forma de amônia, forma reativa e assimilável por vegetais. *Azospirillum amazonense* é uma bactéria diazotrófica que cresce em vida livre ou associada a plantas de importância econômica. A fixação biológica do nitrogênio é um processo que demanda muita energia, portanto é extremamente regulado pela célula bacteriana. A proteína PII (GlnB) e a Uridiltransferase (GlnD) são proteínas envolvidas na cascata de percepção dos níveis de nitrogênio e são essenciais na regulação da expressão de genes envolvidos no processo de fixação do nitrogênio. O presente trabalho visa a clonagem e caracterização dos genes *glnB* e *glnD* de *A. amazonense*. Um fragmento de aproximadamente 230 pb foi obtido por PCR utilizando primers específicos, desenhados a partir de regiões conservadas de genes *glnB* de diversas bactérias. Este fragmento está em fase de clonagem em pUC18, para posterior determinação da seqüência de nucleotídeos. Este fragmento será utilizado como sonda em uma biblioteca genômica de *A. amazonense* que será construída. Foi recentemente isolado um plasmídeo recombinante contendo um gene de *A. amazonense*, oriundo da técnica de RDA, que possui homologia com o gene *glnD* de outros organismos. Este inserto será analisado com enzimas de restrição e utilizado como sonda sobre a biblioteca de *A. amazonense*. Assim, será possível caracterizar os genes *glnB* e *glnD* de *A. amazonense*, bem como suas regiões flanqueadoras. (Fapergs).