

101

**CONSTRUÇÃO DE VETOR PLASMIDIAL PARA O ENVIO DE PROTEÍNAS AO CLOROPLASTO DE CANA-DE-AÇÚCAR.** Marina Siebert, Heique Marlis Bogdawa, João Antonio Pêgas Henriques, Giancarlo Pasquali (orient.) (Departamento de Biologia Molecular e Biotecnologia, Instituto de Biociências, UFRGS).

A verdadeira engenharia genética começou a provar o seu potencial mais recentemente. Por ela, novas rotas metabólicas podem ser inteiramente introduzidas em organismos produtores ou “biofábricas” e o design de novas drogas e produtos pode ser concebido a partir da combinação de diferentes genes, pela modulação de suas expressões e atividades ou das proteínas codificadas. A possibilidade de direcionar proteínas recombinantes para organelas como os plastídeos (especialmente os cloroplastos) enquadra-se neste tipo de avanço da engenharia genética vegetal. O acúmulo de proteínas envolvidas na rota metabólica para a síntese de polímeros biológicos do tipo poli-hidroxialcanoato (PHA) em cloroplastos de diferentes plantas-modelo mostrou ser a melhor estratégia para a produção destes poliésteres biodegradáveis. Este projeto de pesquisa visa a construção de um vetor plasmidial para o direcionamento de proteínas para os plastídeos, em especial de cana-de-açúcar. Neste sentido, a seqüência codificadora do peptídeo-sinal (PS) da subunidade menor da RUBISCO de cana-de-açúcar foi obtida a partir da transcrição reversa seguida de PCR do RNA total de folhas de cana-de-açúcar e primers específicos. O fragmento amplificado foi clonado no vetor pCR Blunt e a identidade da seqüência foi confirmada pelo seqüenciamento. O peptídeo-sinal foi transferido para o vetor de expressão pAHC17 que possui o promotor do gene da ubiquitina (Pubi) de milho e o terminador da nopalina sintetase (Tnos) de *A. tumefaciens*. Em paralelo, o gene codificador da proteína de fluorescência verde (GFP) oriundo de pCAMBIA1302 foi amplificado por PCR e ligado ao vetor pCR Blunt. Atualmente, os esforços estão direcionados à ligação deste fragmento de *gfp* ao cassete Pubi-PS-(-Tnos) (pAHC17:PS) em fase de leitura. A seguir, este vetor será avaliado quanto à eficiência de direcionar a proteína GFP aos cloroplastos de cana-de-açúcar. O gene *gfp* poderá ser substituído por qualquer outra seqüência codificadora de interesse biotecnológico. Apoio Financeiro: FAPERGS e CNPq; Apoio Técnico: Dr. Eugênio C. Ulian (Copersucar). (PIBIC-CNPq-UFRGS).