

125

ISOLAMENTO DE SEQUÊNCIAS DE DNA COM ATIVIDADE PROMOTORA EM PLANTAS.

Felipe F. de Felippes¹; Juliana S. de Nonohay²; Helga A. Winge² & Giancarlo Pasquali^{1,2} (¹Laboratório de Biologia Molecular Vegetal, Centro de Biotecnologia do Estado do Rio Grande do Sul; ²Programa de

Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul)

O surgimento das tecnologias de transferência de genes para plantas possibilitou o uso de toda a biodiversidade no melhoramento vegetal, e o sucesso da aplicação dessa tecnologia depende do uso de seqüências promotoras eficazes. O promotor do vírus do mosaico da couve-flor (CaMV 35S) é a seqüência mais usada na transformação genética vegetal, mas o seu uso pode ocasionar diminuição de crescimento e outros problemas, isso porque o 35S é um promotor forte, ou seja, seqüestra grande parte da maquinaria de tradução de célula. Além disso, seu uso em monocotiledôneas é restrito. A transformação utilizando promotores da própria planta é desejada, pois pode facilitar a obtenção de plantas transgênicas, assim como promotores tecido-específicos. O objetivo do presente trabalho é a obtenção de seqüências promotoras e terminadoras capazes de direcionar a expressão gênica em diferentes tecidos de cevada (*Hordeum vulgare*). Para isso, genes com regulação específica em cevada foram pesquisados no GenBank/EMBL e oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) para amplificação por PCR das regiões promotoras ou terminadoras desses genes foram desenvolvidos. Três fragmentos foram amplificados por PCR, clonados em pUC18 e seqüenciados de forma automatizada. Um deles mostrou homologia com a seqüência original. Todas as três seqüências foram transferidas para o plasmídeo de expressão pGusXX-47 em ambas as orientações. Para testar o potencial promotor das seqüências amplificadas e a sua especificidade, diferentes tecidos de cevada serão transformados por biobalística e a expressão transiente do gene *gusA* será avaliada. (Auxílio financeiro: Fapergs e CNPq - PIBIC/UFRGS)