

408

PAPEL DA PROTEÍNA NifA NA REGULAÇÃO DO OPERON *fixABCX* DE *Azospirillum brasilense*. Raul A. Sperotto, Irene S. Schrank, Luciane M. P. Passaglia (Departamento de Genética e Biologia Molecular, Centro de Biotecnologia, UFRGS)

O complexo enzimático da nitrogenase é utilizado pelas bactérias diazotróficas para a conversão do N₂ atmosférico em formas quimicamente reativas. Essa conversão envolve a ativação de diversos genes, entre eles os genes *fixABCX*. A região regulatória do operon *fixABCX* possui 3 seqüências UAS's, que são sítios de ligação para a proteína ativadora NifA, uma região promotora -24/-12 reconhecida pelo sigma alternativo σ^{54} , típica de genes envolvidos no processo de fixação biológica do nitrogênio, além de uma outra seqüência promotora que pode ser reconhecida pelo fator σ^{70} da RNA-polimerase de *Escherichia coli*. Para demonstrar que a ativação dos genes *fixABCX* é dependente da presença da proteína NifA, foi amplificada uma região promotora (a partir de *primers* mutados) onde o sítio de reconhecimento para o fator σ^{70} foi alterado. Este fragmento de DNA de 273 pb contendo a região mutada foi clonado no vetor pMC1403, que permite a monitoração *in vivo* da atividade de regiões promotoras pela fusão do promotor a ser testado e o gene *lacZ*. O plasmídeo recombinante foi transformado em linhagens de *E. coli* MC1061, contendo ou não o plasmídeo pCK3, o qual expressa constitutivamente a proteína NifA de *Klebsiella pneumoniae*. Estão em andamento as análises da atividade deste promotor para verificar se a região promotora do operon *fixABCX* somente ativa a transcrição do gene *lacZ* na presença da proteína NifA. (Fapergs)