

146

**ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO GENE *glnB* DE *Azospirillum amazonense*.** Paola P. Stumpf<sup>1,2</sup>, Samanta B. de Campos<sup>1,2</sup>, Deise P. Potrich<sup>1,2</sup>, Irene S. Schrank<sup>1</sup> e Luciane M. P. Passaglia<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>Centro de Biotecnologia, <sup>2</sup>Departamento de Genética, Instituto de Biociências, UFRGS)

Bactérias do gênero *Azospirillum* apresentam a capacidade para converter o nitrogênio atmosférico inerte (N<sub>2</sub>) para formas biologicamente ativas e capazes de serem absorvidas pelas plantas, como a amônia (NH<sub>3</sub>). Esse processo, chamado de fixação biológica do nitrogênio, é extremamente elaborado e depende da produção de um complexo enzimático, chamado Nitrogenase, o qual só é funcional em condições de baixas tensões de oxigênio e nitrogênio. Vários genes estão envolvidos na síntese e no funcionamento da nitrogenase e sabemos que a regulação desses genes segue uma ordem de eventos, os quais respondem às variações de oxigênio e nitrogênio no meio. A proteína PII, produto do gene *glnB*, funciona como um sensor da disponibilidade de nitrogênio para a célula, desencadeando, na ausência deste, os processos que culminarão na síntese de uma nitrogenase ativa. Com o objetivo de isolarmos o gene *glnB* de *A. amazonense*, oligonucleotídeos, baseados em seqüências de genes *glnB* isolados de outras bactérias, foram desenhados e utilizados em uma reação de PCR, na qual um fragmento de ~ 200 pb foi amplificado. Esse fragmento foi sequenciado e mostrou conter a região central do gene *glnB* de *A. amazonense*. Utilizando-se esse fragmento como sonda, através de um experimento de Southern blot, identificamos uma banda única na região correspondente a fragmentos de ~ 4 kb no DNA total de *A. amazonense*, clivado com a enzima *Pst*I. Esses fragmentos foram purificados e estão sendo clonados no vetor pUC18, também clivado com *Pst*I. Das colônias transformantes serão extraídos os DNAs plasmidiais, clivados com *Pst*I e submetidos à hibridização com o fragmento de 200 pb amplificado, a fim de identificarmos um clone que contenha a região correspondente ao gene *glnB* completo da bactéria em estudo. (FAPERGS)