



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Clonagem do gene glnR de Paenibacillus riograndensis em vetores plasmidiais
Autor	ELIARA ASSIS MAUZOLF
Orientador	LUCIANE MARIA PEREIRA PASSAGLIA

Clonagem do gene *glnR* de *Paenibacillus riograndensis* em vetores plasmidiais

Bolsista: Eliara A. Mauzof

Orientador: Luciane M. P. Passaglia

Instituição de ensino: UFRGS

O nitrogênio é um elemento essencial para os seres vivos. A atmosfera é composta em abundância por N₂, porém, organismos mais complexos não conseguem assimilar essa molécula. Um dos métodos utilizado para reduzir N₂ atmosférico à amônia, sem causar danos ao ambiente, é através da fixação biológica do nitrogênio (FBN). Esse processo é realizado por micro-organismos diazotróficos, portadores da enzima nitrogenase, que tornam o nitrogênio metabolicamente utilizável por outros seres vivos. Esse processo é altamente energético para as células e finamente regulado pela disponibilidade de nitrogênio e níveis de oxigênio. O mecanismo de regulação de genes relacionados com o processo de FBN está bem caracterizado em modelos Gram-negativos, mas são pouco compreendidos em bactérias Gram-positivas. Os poucos exemplos estudados dentro de bactérias Gram-positivas mostram modelos regulatórios completamente distintos, incluindo promotores dependentes de σ^{70} e pouco conhecimento sobre os seus elementos regulatórios básicos. O promotor dependente de σ^{70} é diferente dos típicos promotores dependentes de σ^{54} -24/-12 encontrados a montante dos genes *nif* em bactérias fixadoras de nitrogênio Gram-negativas. Ao contrário de diazotróficas Gram-negativas, em Gram-positivas não existe o ativador transcricional NifA, nem o sítio de ligação de NifA na região promotora do cluster dos genes *nif*. No modelo Gram-positivo *Bacillus subtilis* dois fatores transcpcionais, TnrA e GlnR, controlam a expressão dos genes *nif* em resposta à disponibilidade de nitrogênio. Nosso modelo de estudo é a bactéria *Paenibacillus riograndensis* SBR^{5T}, Gram-positiva, diazotrófica aeróbia facultativa e formadora de esporos. Ela foi isolada da rizosfera de trigo e seu genoma possui três agrupamentos de genes relacionados ao processo de FBN, sendo dois sistemas funcionais, *nif* e *anf*. No presente estudo pretendemos elucidar a função da proteína GlnR, a fim de contribuir para o entendimento da regulação da expressão dos genes *nif* e do mecanismo de FBN em *P. riograndensis*. Para obtenção do gene *glnR* realizamos uma reação de PCR a partir do genoma de *P. riograndensis* SBR^{5T}. Após, foi realizada uma reação de ligação com o produto da PCR e o vetor pGEM-T Easy e essa foi transformada em células termocompetentes de *Escherichia coli* para a obtenção de plasmídeos recombinantes. Foram selecionadas 12 colônias recombinantes pelo método da coloração azul/branca e os DNAs plasmidiais contendo o gene *glnR* foram extraídos por lise alcalina. Para confirmar a inserção do gene *glnR* no vetor pGEM-T Easy, realizamos o sequenciamento pelo método de Sanger. Todas as colônias testadas demonstraram conter o inserto correto. Para transferir o fragmento de interesse para o vetor de expressão pGEX-4T-2, digerimos o DNA obtido de três colônias contendo o vetor pGEM::*glnR*. Está em andamento a clonagem do fragmento contendo o gene *glnR* no vetor pGEX-4T-2 para expressar a proteína GlnR a partir da construção pGEX::*glnR*.

Apoio: CNPq, CAPES