

021

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DAS PROTEÍNAS NIFS E ISCS DE AZOTOBACTER VINELANDII. *Giovana Domeneghini Mercali, Maria Júlia Ledur Alles, Jeverson Frazzon (orient.)*
(Departamento de Ciências dos Alimentos, Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos, UFRGS).

Proteínas ferro-enxofre são onipresentes na natureza e participam de muitos processos vitais, como a fixação de nitrogênio, reparo do DNA, biossíntese de aminoácidos e nucleotídeos e metabolismo energético. Os genes *nif*, envolvidos na fixação do nitrogênio, têm importante papel na formação de todos os metalocluster da nitrogenase. Em *Azotobacter vinelandii*, a proteína NifS, produto do gene *nifS*, é uma piridoxal fosfato que utiliza a L-cisteína como substrato para formar os produtos L-alanina e o elemento enxofre, que participa da formação do agrupamento [Fe-S], além de estar envolvida na biossíntese de biotina, tiamina, tioridina e todos os tionucleosídeos. A procura de genes potencialmente envolvidos com a biossíntese do agrupamento [Fe-S] levou a identificação dos genes *isc* em *A. vinelandii* e *Escherichia coli*. A seqüência primária das proteínas NifS e IscS de *A. vinelandii* e IscS de *E. coli* apresentam alta homologia. Porém, resultados preliminares demonstraram que a complementação da linhagem mutante de *E. Coli* CL100 (IscS-) com os genes *nifS* e *iscS* de *A. Vinelandii* provocam variações na reconstituição do fenótipo Isc-/+ . O objetivo desse trabalho baseia-se na caracterização molecular das proteínas NifS e IscS de *A. vinelandii*. O projeto propõe a criação de mutantes ao acaso para NifS, que complementem o fenótipo IscS- de *E. coli* CL100 em níveis similares aos obtidos com IscS. Os mutantes NifS serão obtidos ao acaso através da transformação do plasmídeo recombinante pARA13::NifS em células de *E. coli* XL-red, que é desprovida do sistema de reparo. As células obtidas na transformação terão seu DNA plasmidial extraído e o mesmo será utilizado no evento de complementação gênica. Transformantes NifS que atingirem o mesmo nível de complementação da linhagem transformadas com IscS terão a sua seqüência primária determinada e as diferenças estruturais entre as duas proteínas serão analisadas. (PIBIC/CNPq-UFRGS).