

147

**CLONAGEM E SEQUENCIAMENTO DO GENE *nifA* DE *Azospirillum amazonense*.** Samanta B. de Campos<sup>1,2</sup>, Paola P. Stumpf<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, UFRGS)

A Nitrogenase é a enzima-chave na conversão do nitrogênio molecular em amônia. Esse processo consome grandes quantidades de ATP e, devido ao fato da nitrogenase ser inativada na presença de altas concentrações de oxigênio e nitrogênio, existem vários mecanismos que regulam a transcrição dos genes envolvidos (genes *nif*) na síntese das proteínas que irão compor a nitrogenase. Dentre esses genes, *nifA* possui o papel de ativador da transcrição dos demais genes *nif*. A proteína NifA reconhece e se liga em regiões chamadas de sequências ativadoras upstream (UAS), as quais possuem a sequência consenso TGT-N<sub>10</sub>-ACA e que estão na região reguladora dos operons *nif*. Em condições de fixação de nitrogênio, a ligação de NifA nesses sítios promove a transcrição dos genes *nif* e a síntese de uma nitrogenase ativa. A proteína NifA já foi isolada de diversas bactérias diazotróficas e tem demonstrado tanto similaridades quanto diferenças funcionais entre as proteínas estudadas. A fim de isolarmos o gene *nifA* de *Azospirillum amazonense*, uma bactéria diazotrófica que se associa preferencialmente à cana-de-açúcar, utilizamos como sonda um fragmento de ~ 2,0 kb, que contém o gene *nifA* de *A. brasiliense*, em experimentos de Southern blot. Uma banda de hibridização foi identificada na região correspondente a fragmentos de ~ 3,0 kb do DNA de *A. amazonense*, clivado com a enzima *Pst*I. Os fragmentos do DNA dessa região foram purificados em gel de agarose e estão sendo clonados no vetor pUC18, igualmente clivado com *Pst*I. Os recombinantes obtidos serão selecionados através da hibridização com o fragmento de 2,0 kb de *A. brasiliense* para identificarmos o clone que contém o gene *nifA* completo de *A. amazonense*. (FAPERGS, BIC/UFRGS).