

029

CARACTERIZAÇÃO E ISOLAMENTO DA REGIÃO REGULATÓRIA DO OPERON *nifENXorf3* DE *Azospirillum brasilense*. Deise P. Potrich, Irene Schrank* e Luciane M. P. Passaglia. (Centro de Biotecnologia, Departamento de Genética e *Departamento de Biotecnologia, UFRGS).

Azospirillum brasilense é capaz de fixar o nitrogênio atmosférico devido a presença de um complexo enzimático denominado Nitrogenase. A Nitrogenase é uma metaloenzima composta por duas subunidades protéicas: a Fe-proteína e a MoFe-proteína. A Fe-proteína nativa é um dímero de aproximadamente 68 kDa, formada por duas subunidades idênticas. A MoFe-proteína é um tetrâmero formado por quatro grupamentos [4Fe-4S] e dois cofatores FeMo. Pelo menos seis genes *nif*: *nifQ*, B, V, E, N e H, estão envolvidos na formação do FeMoco. Os genes *nifE*, N e X do genoma de *A. brasilense* já foram isolados e parcialmente sequenciados. Estes genes estão organizados em um só operon, juntamente com uma orf (*orf3*), que apresentou similaridade significativa com a *orf5* de *Rhodobacter capsulatus*, com função de ferredoxina. O operon *nifENXorf3* muito provavelmente é regulado pela proteína ativadora NifA, devido à presença de uma sequência típica de ligação desta proteína (TGT-N10-ACA), localizada na região anterior ao sítio promotor do operon. A fim de estudarmos detalhadamente a região regulatória do operon *nifENXorf3* um fragmento de DNA de aproximadamente 1,6 kb, que contém além da região promotora deste operon o gene *nifE* de *A. brasilense*, foi subclonado nos vetores Bluescript KS+ e SK+ e está sendo totalmente sequenciado. A região promotora, uma vez identificada e caracterizada, será subclonada no vetor pMC1403 para monitorarmos sua atividade através da expressão da proteína (-Galactosidase. (CNPq-RHAE, FAPERGS).