



Categoria: Iniciação Científica
Biotecnologia e biossegurança

Análise funcional da proteína fur de *Gluconacetobacter diazotrophicus*

Jéssica de Paula Ferreira¹, Cleiton de Paula Soares², José Ivo Baldani³, Marcia Soares Vidal⁴

¹Bolsista de Iniciação Científica CNPq, Graduanda em Engenharia Agrônômica, UFRRJ, jeessica_ufrj@yahoo.com.br

²Bolsista de Doutorado em Biotecnologia Vegetal, UFRJ, cleiton_depaula@yahoo.com.br

³Pesquisador da Embrapa Agrobiologia, ibaldani@cpnpab.embrapa.br, marcia@cpnpab.embrapa.br

O Ferro é nutriente essencial para o desenvolvimento da maioria dos organismos vivos e, apesar de ser abundante na natureza, apresenta-se pouco solúvel. Por conta disso, os organismos desenvolveram um sistema de captação de Ferro que garante sua obtenção a partir do ambiente externo. Apesar de sua importância para diversos processos metabólicos, o excesso de Ferro no interior das células pode ocasionar estresse oxidativo. Em bactérias gram-negativas, a proteína Fur ("Ferric Uptake Regulator") possui um papel central na regulação de genes responsivos à concentração de ferro. *Gluconacetobacter diazotrophicus* é uma bactéria endofítica, fixadora de nitrogênio, em cujo genoma já sequenciado existe uma proteína do tipo Fur, codificada pela ORF GDI_1398. Este trabalho visa avaliar a função da proteína Fur de *G. diazotrophicus*. Para tal, realizou-se amplificação por PCR desse gene e posterior clonagem no vetor pGEM[®]-T Easy. A construção pGGDI_1398 obtida foi confirmada por análise de restrição e sequenciamento. O transposon Tn5 foi posteriormente inserido no gene de interesse e as construções pGGDI_1398 e pGGDI_1398Tn5 foram transferidas para a estirpe repórter *Escherichia coli* H1780, que possui o gene *fur* inativado, de modo que o gene repórter não é reprimido e a enzima β -galactosidase é expressa, o que pode ser visualizado pela mudança de cor das colônias, de branco para vermelho, em meio MacConkey suplementado com lactose e 30 μ M de FeSO₄. Esses experimentos mostraram que o plasmídeo pGGDI_1398 complementou a mutação no gene *fur* em células de *E. coli* H1780, possibilitando a produção da proteína Fur e reprimindo a transcrição do *fiu-lacZ*.

Palavras-chave:

bactéria diazotrófica; metabolismo de ferro; complementação genética.