



Categoria: Iniciação científica

Biotecnologia

**Construção de vetor recombinante para avaliação da expressão
do gene *pdC* de *Gluconacetobacter diazotrophicus***

Bruna Regina Ferreira Neves¹, Patrícia Gonçalves Galvão², Luc Felicianus Marie Rouws³,
Stefan Schwab³, José Ivo Baldani³, Marcia Soares Vidal³

¹Bolsista de IC (CNPq), Embrapa Agrobiologia, Graduando em Agronomia em UFRRJ, bruna_regina111@yahoo.com.br;

²Bolsista de Pós-Doutorado, Embrapa Agrobiologia, patriciaufrj@yahoo.com.br; ³Pesquisadores Embrapa Agrobiologia,
luc.rouws@embrapa.br; stefan.schwab@embrapa.br, ivo.baldani@embrapa.br, marcia.vidal@embrapa.br

Trabalhos anteriores envolvendo a obtenção e seleção de mutantes defectivas para a produção de auxina em *Gluconacetobacter diazotrophicus* indicam que a principal rota de biossíntese deste fitohormônio nesta bactéria diazotrófica é a via do Indol-3-Ácido Pirúvico (IPyA). A enzima responsável pela segunda etapa desta rota em que ocorre a descarboxilação do IPyA gerando o Indol-3-Acetaldeído (IAAId) é a indol-3-piruvato descarboxilase. O gene que codifica esta enzima, o *ipdC*, não foi identificado no genoma de *G. diazotrophicus*; no entanto, foi identificada uma ORF (GDI_0172) com alta identidade (70%) ao gene que codifica a enzima piruvato descarboxilase (PDC) de *Zimobacter palmae*. Diante disso, o presente trabalho teve por objetivo gerar uma fusão transcricional entre a sequência promotora do gene *pdC* de *G. diazotrophicus* e o gene repórter *gfp* para acompanhar a atividade transcricional do gene *pdC* na estirpe PAL5 de *G. diazotrophicus*. A fusão transcricional foi obtida pela amplificação por PCR da sequência promotora de *pdC* e, posterior clonagem no vetor pGEM®-T Easy. Após confirmação desta clonagem por análise de restrição com as enzimas *EcoRI*, *SphI* e *BglII* e sequenciamento, o fragmento correspondente ao promotor *pdC* foi subclonado ao vetor pHRGFPTC obtendo-se a construção ppdCGFP. No momento, esta construção está sendo mobilizada para a estirpe PAL5 para a obtenção da estirpe a ser utilizada nos ensaios de expressão gênica. Pretende-se empregar essa construção para analisar a expressão do gene repórter *gfp* sob controle do promotor do gene *pdC* de *G. diazotrophicus* em condições de cultivo que favoreçam a produção de auxina, bem como, durante o processo de interação planta-bactéria.

Palavras-chave:

Auxina; Piruvato descarboxilase; GFP.