



Categoria: Iniciação científica

Biotecnologia

Clonagem e expressão da proteína Fur recombinante de *Gluconacetobacter diazotrophicus* em sistema heterólogo

Glacyanne Christine Vieira dos Santos¹, Jéssica de Paula Ferreira²,
Cleiton de Paula Soares³, José Ivo Baldani⁴, Marcia Soares Vidal⁴

¹Estagiária Embrapa Agrobiologia, Graduanda em Engenharia Florestal, UFRRJ, annesantos@ufrj.br;

²Bolsista Embrapa Agrobiologia, Mestrando em Fitotecnia - UFRRJ, jeessica_aufrrj@yahoo.com.br;

³Bolsista Embrapa Agrobiologia, Doutorando em Biotecnologia Vegetal, UFRJ, cleiton_depaula@yahoo.com.br;

⁴Pesquisadores Embrapa Agrobiologia, ivo.baldani@embrapa.br, marcia.vidal@embrapa.br.

Em bactérias gram-negativas, a proteína Fur (*Ferric Uptake Regulator*), um fator de transcrição, desempenha um papel central na regulação de genes responsivos à concentração de ferro, garantindo a correta expressão de genes relacionados a captação e metabolismo do ferro. O sequenciamento do genoma da bactéria diazotrófica endofítica *Gluconacetobacter diazotrophicus* possibilitou a identificação de uma proteína do tipo Fur codificada pela ORF GDI_1398, gerando assim a necessidade de estudos sobre regulação transcricional promovida por Fur, mais especificamente a interação entre esta proteína e o DNA de *G. diazotrophicus*. O ensaio de retardo da mobilidade na eletroforese (EMSA) é uma das formas mais rápidas de se analisar a interação entre DNA e proteína(s) *in vitro*; no entanto, para que seja realizado é preciso que se tenha a proteína alvo do estudo, neste caso, Fur, purificada. Diante dessa premissa, este trabalho teve por objetivo a clonagem da sequência codificante da proteína Fur de *G. diazotrophicus* e expressão desta proteína recombinante em *Escherichia coli*. Para a realização deste trabalho optou-se pelo emprego do sistema de expressão Gateway. Inicialmente, a sequência correspondente foi amplificada por PCR e clonada no vetor de expressão pDEST17 a partir de dois eventos de recombinação dando origem a construção pDEST17Fur. Esta construção foi mobilizada para a estirpe BL21-AI de *E. coli* a ser utilizada na expressão heteróloga da proteína Fur recombinante. Ensaios pilotos foram realizados a fim de se avaliar as condições ideais para expressão da proteína, onde foram avaliados os seguintes fatores: tempo e temperatura de indução (30 e 37°C), onde pode-se observar a expressão da proteína nas duas temperaturas testadas e, que a partir de 30 minutos de indução observa-se expressão da proteína recombinante. No momento, deu-se início ao processo de purificação da proteína recombinante, que posteriormente será empregada nos experimentos de EMSA.

Palavras-chave:

bactéria diazotrófica; metabolismo de ferro; proteína recombinante.