



Biologia Molecular, Biotecnologia e Biossegurança

Categoria: Iniciação Científica

Geração de mutante *exbD2* para avaliar a importância desse gene no transporte de ferro em *Gluconacetobacter diazotrophicus*

Raíssa C. L. Peixoto¹, Jéssica de Paula Ferreira², Cleiton de Paula Soares³, José Ivo Baldani⁴, Marcia S. Vidal³.

¹Bolsista FAPERJ, Graduanda em Ciências Biológicas, UFRRJ, raissacarolineloureiro@bol.com.br

²Bolsista CNPq, Graduanda Agronomia, UFRRJ, jeessica_ufrj@yahoo.com.br

³Bolsista CAPES, Doutorando em Biotecnologia Vegetal, UFRJ, cleiton_depaula@yahoo.com.br

⁴Pesquisador Embrapa Agrobiologia, ibaldani@cnpab.embrapa.br, marcia@cnpab.embrapa.br

A partir de resultados obtidos da anotação do genoma da estirpe selvagem PAL5^T de *Gluconacetobacter diazotrophicus*, foi observada a existência do complexo protéico TonBExbBExbD, envolvido com o transporte ativo de ferro e outras moléculas. Desse complexo, as proteínas ExbB, ExbD1 e ExbD2 são importantes para a manutenção estrutural de TonB, responsável pelo fornecimento de energia para receptor dependente dessa proteína. O objetivo deste trabalho é a caracterização funcional de ExbD2 na estabilização do complexo TonBExbBExbD, empregando mutantes desse gene. Para construção dos mutantes, foi realizada PCR com iniciadores específicos para o gene de interesse, utilizando, como molde, o DNA genômico de PAL5^T. O produto da amplificação foi clonado no vetor suicida pGEM[®]-T Easy, e introduzido em células eletrocompetentes de *Escherichia coli*. A interrupção do gene *exbD2* foi realizada por meio de inserção do transposon Tn5 no gene *exbD2*, previamente clonado no plasmídeo pGEM[®]-T Easy. As próximas etapas consistem em transferência das construções para células de *G. diazotrophicus*, por eletroporação, visando gerar mutantes para esse gene. As bactérias selecionadas serão avaliadas quanto a viabilidade e crescimento na presença e ausência de ferro, bem como, para motilidade, capacidade de formação de biofilme, adesão e colonização de plântulas de arroz e/ou cana-de-açúcar.

Palavras-chave:

complexo TonBExbBExbExbD, PAL5^T, pGEM[®]-T Easy.