



Realização:



Apoio:

**XVII CIC
X ENPOS**Conhecimento sem fronteiras
XVII Congresso de Iniciação Científica
X Encontro de Pós-Graduação
11, 12, 13 e 14 de novembro de 2008

CLONAGEM DE GENES ADH1 EM GENÓTIPOS DE ARROZ E TRIGO

Autor(es): SILVEIRA, Solange F. da S.; CASTELO BRANCO, Juliana S.; FAGUNDES, Michel; MEDEIROS, Tatiane Souza; TESSMANN, Elisane; COSTA DE OLIVEIRA, Antônio

Apresentador: Solange Ferreira da Silveira Silveira

Orientador: Antonio Costa de Oliveira

Revisor 1: Sibebe Borsuk

Revisor 2: Luciano da Silva Pinto

Instituição: Universidade Federal de Pelotas

Resumo:

A fim de suprimir o déficit de energia promovido pela hipoxia, com a paralisação da respiração aeróbica, algumas espécies redirecionam as vias metabólicas para garantirem a produção extra de ATP pelo aumento na taxa de fermentação. Nessas espécies, um grupo de proteínas que catalisam reações da glicólise e do metabolismo de açúcares fosfatados, notadamente, a enzima Álcool Desidrogenase (ADH), é seletivamente sintetizada. A ADH é uma enzima dimérica presente na segunda etapa da conversão de piruvato a etanol, o que proporciona uma conversão de NAD⁺ para manter a glicólise em condições anaeróbicas. O presente trabalho teve como objetivo amplificar e clonar fragmentos de DNA correspondentes ao gene ADH1 em amostras de arroz Nipombare(N) e trigo BR18(T2) e CEP24(T10), para posterior seqüenciamento e comparação das seqüências determinando a sua homologia para fins de estudar a sintenia do gene da ADH1 entre trigo e arroz. Após a obtenção das seqüências das ADH1, referentes ao genoma do arroz, foram desenhadas seqüências diretas e reversas de oligonucleotídeos iniciadores (primers) flanqueando este gene. Estes primers foram utilizados para amplificação das regiões homólogas no genoma do trigo. Os fragmentos obtidos foram clonados em vetor utilizando-se o kit "TOPO TA Cloning" (Invitrogen), segundo instruções do fabricante. Todas as transformações foram realizadas em *Escherichia coli* TOP10 (Invitrogen). A bactéria foi cultivada em meio Luria-Bertani (LB) contendo 1,5 % de agar, suplementados com o antibiótico canamicina 50 µg.mL⁻¹. Após confirmação dos clones positivos, o DNA plasmidial foi extraído com Plasmid Prep Mini Spin Kit (GE-Healthcares), seguindo-se digestão enzimática com EcoRI para caracterizar os clones recombinantes. Após a digestão obteve-se fragmentos do tamanho dos produtos amplificados por PCR, com 800pb para a amostra de arroz e de 400pb para as amostras de trigo, o que sugere o sucesso da clonagem. A confirmação da presença das seqüências alvo e sua integridade será realizada por seqüenciamento.