

436

CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DE PROMOTORES DE MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE. Luciano Antonio Reolon, Shana de Souto Weber, Sérgio Ceroni da Silva, Irene Silveira Schrank (*orient.*) (UFRGS).

Mycoplasma hyopneumoniae (MH) é o agente etiológico da pneumonia enzoótica suína, a qual apresenta distribuição mundial e causa importantes perdas econômicas. Assim como em outros Mycoplasmas, pouco se conhece sobre as seqüências nucleotídicas que regulam e controlam o início da transcrição em *M. hyopneumoniae*. Esses microrganismos têm o genoma rico em timina/adenina, o que dificulta a definição de seqüências promotoras *in silico*, uma vez que a predição destas tem sido predominantemente baseada em dados disponíveis para *Escherichia coli* (exemplo: TATA box). Sendo assim, faz-se necessária a criação de ferramentas específicas que auxiliem na caracterização destas regiões controladoras. Em 2005, Halbedel & Stülke desenvolveram, para *Mycoplasma pneumoniae*, um plasmídeo, pGP353, portador de um sistema repórter baseado no gene *lacZ*, que possibilita o estudo da atividade de promotores *in vivo*. O objetivo deste trabalho é avaliar a utilização de pGP353 para estudo de promotores em *M. hyopneumoniae*, e observar a funcionalidade da região à montante dos genes *dnaK* e *uvrC*. Visando produzir um controle positivo para testar esse sistema em MH, o promotor do gene da espiralina (PS) de *Spiroplasma citri*, sabidamente funcional em outras espécies de micoplasmas, foi amplificado por PCR a partir do plasmídeo pRST2. O fragmento de 321pb, tratado com Klenow e T4 polinucleotídeo quinase para o preenchimento das extremidades e fosforilação da extremidade 5', foi clonado no vetor pUC18-SmaI desfosforilado. Os clones serão seqüenciados, e os que possuírem o promotor da espiralina na orientação correta serão clivados com BamHI e EcoRI, para posterior clonagem de PS no plasmídeo pGP353 clivado com as mesmas enzimas. Paralelamente, também está sendo feita a amplificação da região 5' à montante dos genes *dnaK* e *uvrC* a partir do DNA total da cepa 7448 de *M. hyopneumoniae*.