

Clonagem de promotores visando à transformação genética de plantas

Daniele Cristina Kael

Acadêmica do curso de Biotecnologia, Universidade Tuiuti do Paraná

Renata Lúcia Grunennvaldt

Engenheira florestal, Mestranda em Produção Vegetal, Universidade Federal do Paraná

Juliana Degenhardt-Goldbach

Engenheira-agrônoma, Doutora, Pesquisadora da Embrapa Florestas

juliana.degenhardt@embrapa.br

A biotecnologia tem se destacado entre as áreas científicas como uma das com maior potencial de geração de inovação tecnológica, capaz de agregar riquezas a diferentes setores produtivos. A produção de plantas geneticamente modificadas com características específicas é um processo altamente promissor. Pesquisas sobre o uso de promotores-específicos são importantes, uma vez que esses direcionam a expressão de transgenes apenas nos órgãos/tecidos de interesse. Dessa forma, evitam a expressão generalizada em toda a planta, que, além do elevado custo energético, pode causar efeitos fenotípicos indesejáveis. Por isso, o objetivo deste trabalho foi a clonagem de promotores raiz-específicos de eucalipto, visando seu uso em construções gênicas para geração de plantas transgênicas tolerantes a estresses abióticos. As estratégias de RNA-Seq e análise de expressão diferencial de genes foram utilizadas para avaliar as sequências produzidas a partir de bibliotecas de cDNA de raiz, caule e folha de diferentes genótipos de eucalipto. Dois genes com expressão preferencial de raiz foram selecionados e dos quais amplificou-se 1 kb da região promotora a partir do DNA de folha de *Eucalyptus*. As regiões amplificadas foram purificadas e clonadas em plasmídeo pGEM-T (Invitrogen). Após essa etapa, o plasmídeo foi digerido com enzimas de restrição Eco RI e Bgl II para liberar a região promotora, sendo essa posteriormente inserida no pCAMBIA 2301, vetor binário de transformação de planta que contém o gene repórter *GUS*. O plasmídeo pCAMBIA2301 e as regiões promotoras específicas de raiz foram utilizados na reação de ligação. O vetor contendo o inserto foi então utilizado diretamente para transformação de *E. coli* TOP 10, por eletroporação. As colônias selecionadas tiveram o DNA plasmidial isolado e digerido com as enzimas de restrição *EcoRI* e *BglII*, para a confirmação da inserção da região promotora. Depois de ter sua sequência validada, o vetor será utilizado para transformação de *Populus* via *Agrobacterium tumefaciens* para comprovação da tecido-especificidade dos promotores isolados.

Palavras-chave: Engenharia genética; *Populus*; promotores-específicos.