



CONSTRUÇÃO DE UM PLASMÍDEO DE SELEÇÃO POR ANTIBIÓTICO AMINOGLICOSÍDIO PARA MANIPULAÇÃO GENÉTICA EM *Chlamydomonas*.

RAYANNE JOHAN BRUM¹; CARLOS FREDERICO CECCON LANES²; MÁRCIO DE AZEVEDO FIGUEIREDO³; LUÍS FERNANDO MARINS⁴.

¹Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Rio Grande(FURG), Rio Grande- RS, e-mail: rayannebrum@yahoo.com.br

²Instituto de Oceanografia, Universidade Federal de Rio Grande(FURG), e-mail: carloslanes@furg.br

³Instituto de Oceanografia, Universidade Federal de Rio Grande(FURG), e-mail: mfigueiredo@furg.br

⁴Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Rio Grande(FURG), e-mail: dqmluf@furg.br

Métodos eficientes de transformação gênica se encontram disponíveis para várias espécies de microalgas, incluindo a *Chlamydomonas reinhardtii*. Entretanto, existe apenas um kit comercial com plasmídeo para a manipulação de *C. reinhardtii*, denominado pChlamy_1. Assim, o presente estudo teve como objetivo substituir o gene de resistência à higromicina do pChlamy_1 por um gene de resistência à neomicina. Para isso, o plasmídeo pChlamy_1 foi utilizado como base para a substituição do gene de resistência a antibiótico, através de PCR com primers específicos para amplificar todo o plasmídeo, exceto o gene de resistência à higromicina. O gene de resistência à neomicina foi amplificado por PCR do plasmídeo pDsRed-Express-DR. A nova construção (pChlamy-Neo) foi confirmada por digestão com enzimas de restrição e sequenciamento. Para avaliar a eficiência do plasmídeo, a microalga *C. reinhardtii* (cepa CC3395) foi eletroporada e plaqueada em meio sólido contendo o antibiótico neomicina. Cinco colônias que cresceram nas placas foram cultivadas em meio líquido contendo o antibiótico neomicina, sendo que duas cresceram como o controle. A obtenção desse plasmídeo possibilitará que mais de um gene de interesse seja manipulado simultaneamente nessa microalga.

Palavras-chave: Neomicina, microalga transgênica, *Chlamydomonas reinhardtii*.