

IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE GENES PERTENCENTES À FAMÍLIA PLAC8 E SEU POTENCIAL PAPEL FRENTE A CONDIÇÕES DE ESTRESSE BIÓTICO E ABIÓTICO EM PLANTAS

Dias, N¹; Cagliari, A¹.

¹ Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - UERGS - Santa Cruz do Sul-RS

Introdução

Um dos mecanismos envolvidos na resposta celular a condições de estresse é a morte celular programada, que é constituída por um mecanismo de “autodestruição” celular, eliminando as células lesadas, evitando assim a morte do indivíduo. Dentre as diversas famílias gênicas relacionadas com a morte celular programada está a família PLAC8.

A família PLAC8 é encontrada em fungos, algas, plantas e animais, sendo que em plantas é pouco estudada e sua funcionalidade possivelmente está relacionada com o tamanho do fruto. Já em animais é muito estudada, pois sabe-se que a sua superexpressão induz a apoptose, tornando-se alvo de terapia contra o câncer.

Objetivo

O objetivo deste trabalho é identificação e caracterização de genes pertencentes à família plac8 e seu potencial papel frente a condições de estresse biótico e abiótico em plantas

Metodologia

Utilizando como isca duas sequências proteicas de PLAC8 de *Arabidopsis thaliana*, descritas na literatura, foi realizado BLAST contra o banco de dados PHYTOZOME (<http://phytozome.jgi.doe.gov/>). A análise de conservação do domínio PLAC8 foi realizado através do software MEME. Através do uso do software MEGA 6 (<http://www.megasoftware.net/>) realizou-se o alinhamento das sequências codificantes e sua posterior tradução em aminoácidos. Posteriormente foi realizada análise filogenética dos genes identificados utilizando inferência Bayesiana (50 milhões de gerações) através do software BEAST. Buscando encontrar genes potencialmente úteis para uso em transformação genética de plantas, realizou-se através dos softwares BAR e Genevestigator as análises de expressão gênica durante o desenvolvimento das plantas sob condições de estresse. Através da ferramenta TMHMM (cbs.dtu.dk/services/TMHMM/), realizou-se a predição de domínio transmembrana, além da predição da localização subcelular através da ferramenta TargetP (cbs.dtu.dk/services/SignalP/), e a predição da existência de peptídeos sinal através da ferramenta Signal P.

Resultados e Discussão

Foram identificados 307 genes em 33 espécies dentre as 44 disponíveis no banco de dados, as sequências identificadas foram analisadas quanto à presença dos domínios PLAC8 descritos na literatura, se confirmou a presença de dois domínios diferentes entre si, sendo esses conservados, dos 307 genes, 70 deles é de um domínio (figura 1.) e 237 do outro domínio (figura 2.)

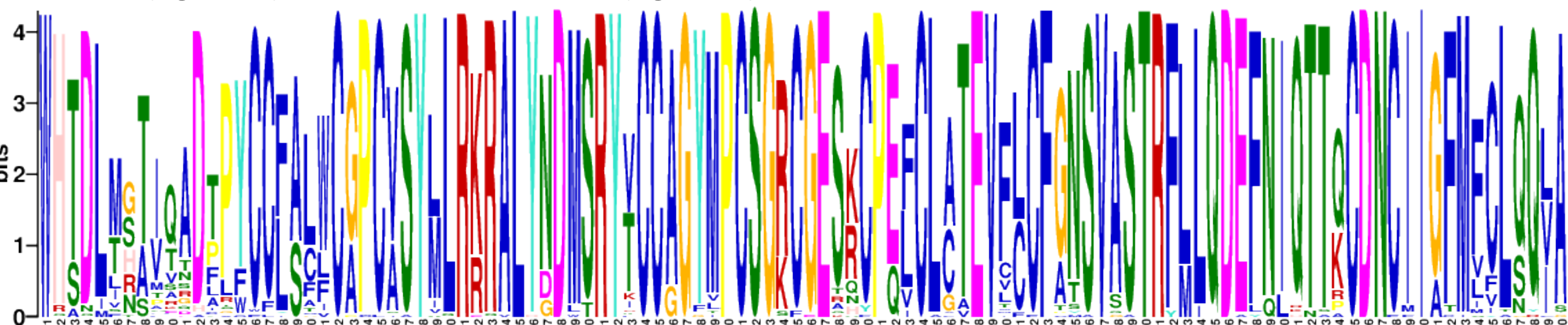


Figura 1. Análise da conservação do domínio PLAC8 TIPO I (isca - AT4G23470.1)

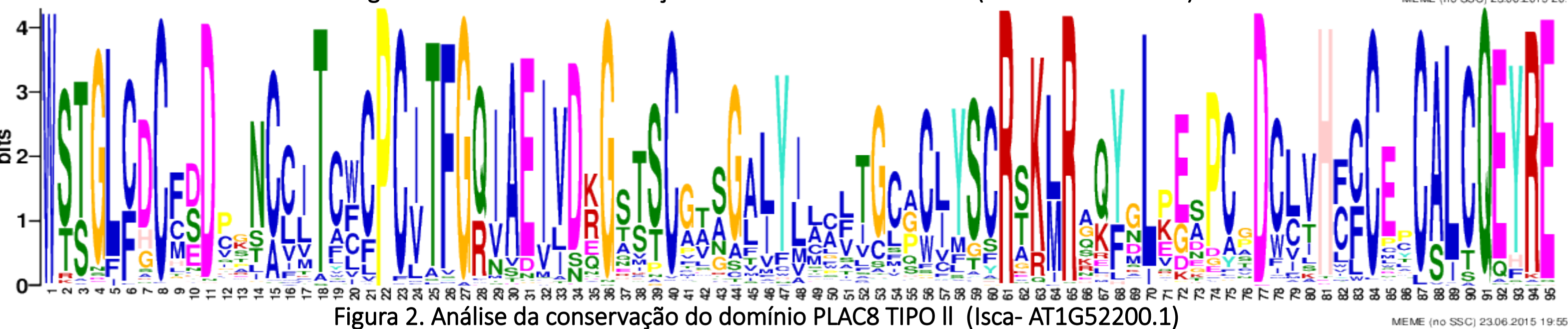


Figura 2. Análise da conservação do domínio PLAC8 TIPO II (isca - AT1G52200.1)

As análises de expressão realizadas em soja apontaram a expressão gênica durante o desenvolvimento da planta em condições de estresse principalmente nas folhas e no caule (figura 3). A figura 4, representa o perfil de expressão dos genes PLAC8 sob diferentes condições de estresse.

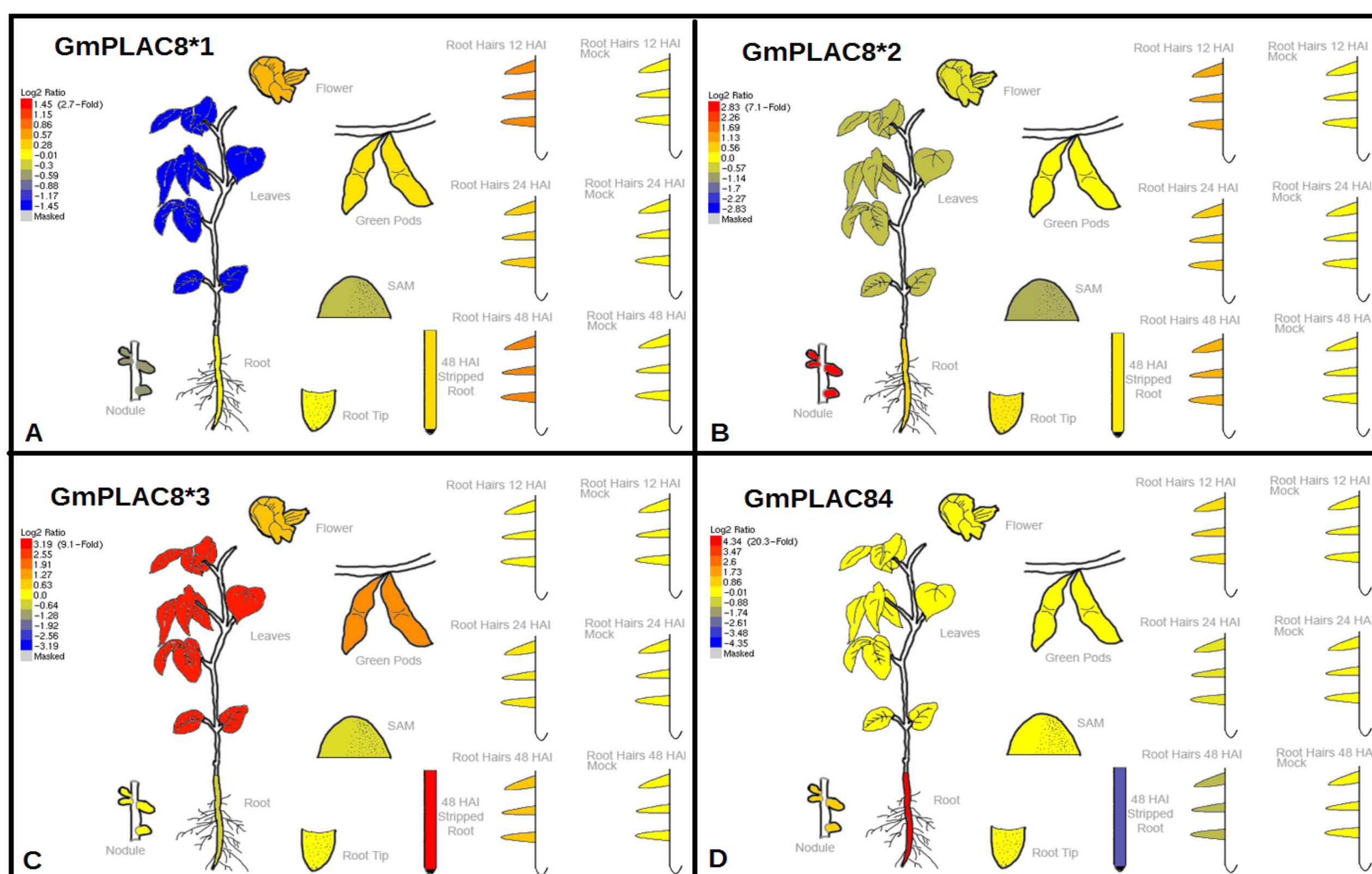


Figura 3. Análise de expressão gênica durante o desenvolvimento vegetal sob condições de estresse biótico (Software Bar)

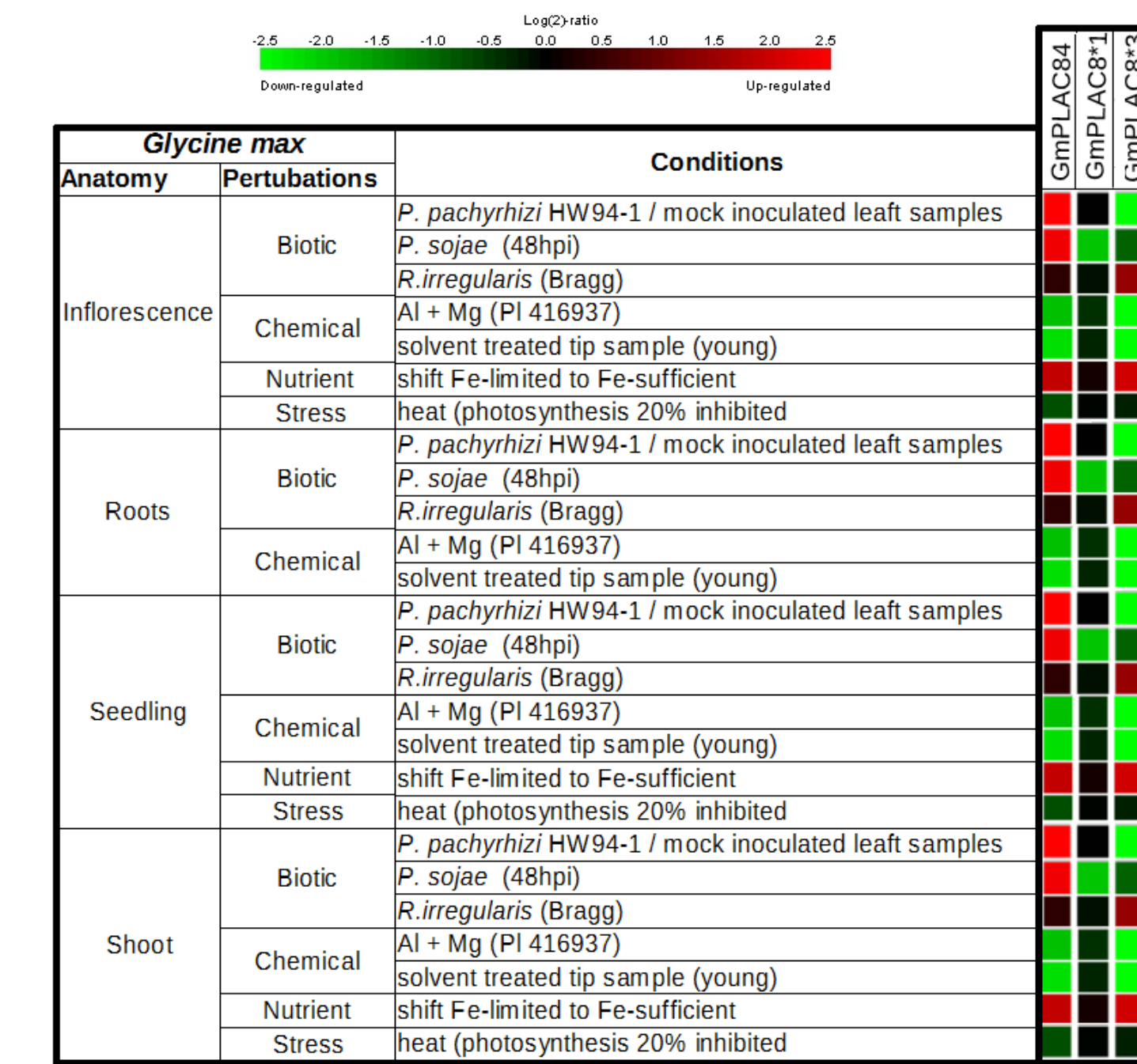


Figura 4. Análise de expressão gênica sob condições de estresse (Software Genevestigator)

Na maioria dos genes em *Glycine max* e *Arabidopsis thaliana* foram identificados domínios transmembrana, estando possivelmente na membrana mitocondrial (figura 5).

Species	Acronym	Transmembrane	Sequence Transmembrane	Signal Peptide	Subcellular Location Prediction
<i>Glycine max</i>	GmPLAC8*1	YES	118 - 140 amino acids	NO	
	GmPLAC8*2	YES	118 - 140 amino acids	NO	Mitochondria
	GmPLAC8*3	YES	118 - 140 amino acids	NO	
	GmPLAC8*4	YES	118 - 140 amino acids	NO	
	GmPLAC81	YES	80 - 102 amino acids	NO	
	GmPLAC82	NO		NO	
	GmPLAC83	YES	72 - 91 / 101 - 123 amino acids	NO	
	GmPLAC84	NO		NO	
	GmPLAC85	YES	101 - 132 amino acids	NO	
	AtPLAC8*1	YES	119 - 141 amino acids	NO	Mitochondria
<i>Arabidopsis thaliana</i>	AtPLAC8*2	YES	118 - 140 amino acids	NO	
	AtPLAC81	YES	94 - 116 amino acids	NO	
	AtPLAC82	YES	49 - 68 amino acids	NO	
	AtPLAC83	YES	92 - 114 amino acids	NO	Mitochondria
	AtPLAC84	YES	129 - 151 amino acids	NO	
	AtPLAC85	YES	59 - 79 amino acids	NO	
	AtPLAC86	YES	57 - 79 amino acids	NO	
	AtPLAC87	YES	57 - 79 amino acids	NO	
	AtPLAC88	NO		NO	
	AtPLAC89	NO		NO	
AtPLAC810	YES	62 - 84 amino acids	NO		

Figura 5. Resultado da busca pelos domínios transmembrana (Software TMHMM), da existência de peptídeos sinais (Software Signal P), e da predição subcelular das proteínas (Target P) em genes de *Glycine max* e *Arabidopsis thaliana*.

Foi realizado a análise filogenética com todos os genes PLAC8 identificados. Observou-se que genes os domínios PLAC8 diferentes formaram grupos separados na análise Bayesiana, representado pela cor azul e amarela, (figura 6).

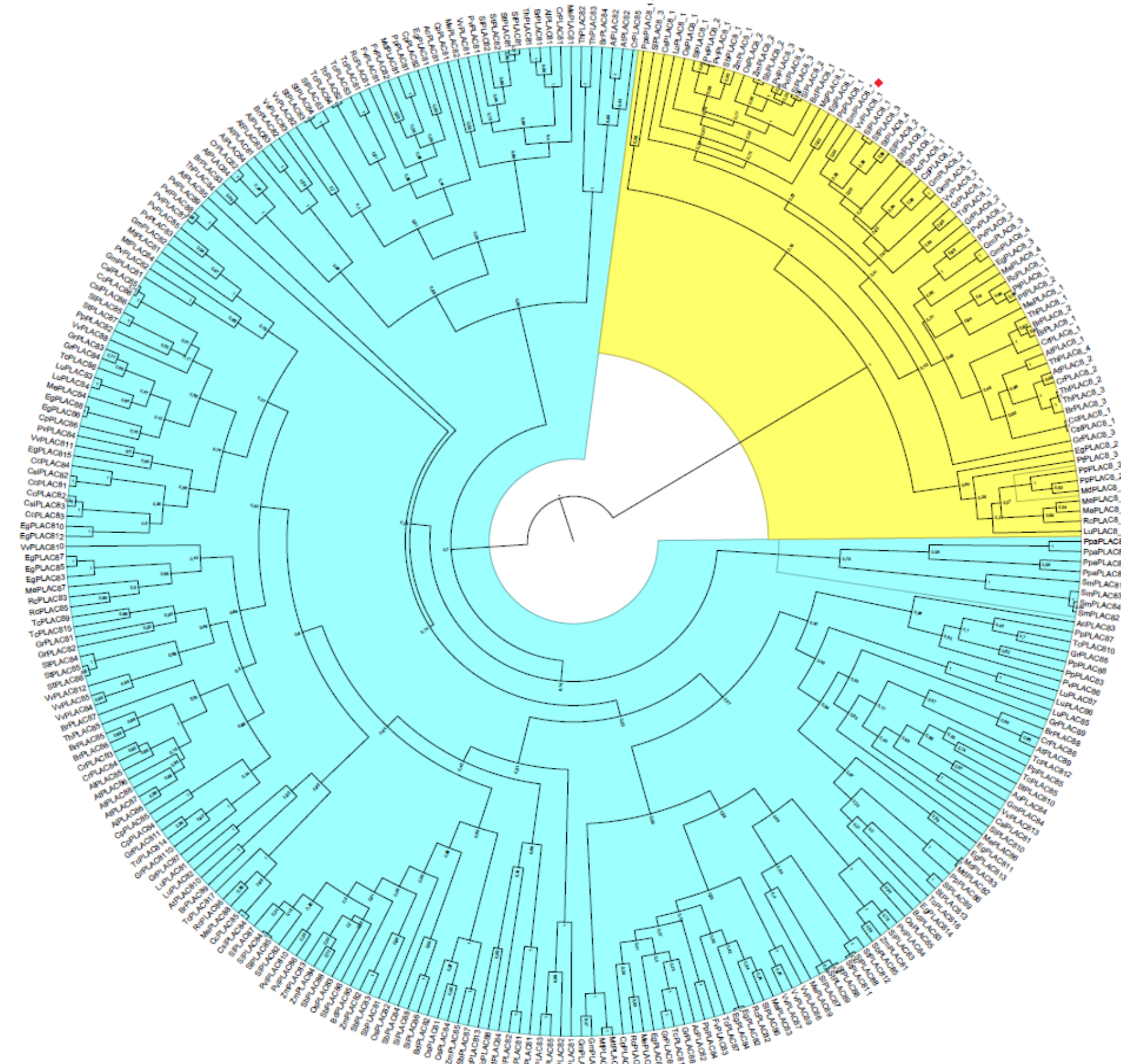


Figura 6. Árvore filogenética contendo da família PLAC8

Considerações finais

Devido ao fato de não termos encontrado indivíduos PLAC8 nas espécies mais basais (algas), podemos supor então que esses genes surgiram com o surgimento das plantas vasculares.

Podemos concluir também que pela sua localização subcelular ser mitocondrial, e pela existência de domínios transmembrana, a função do PLAC8 na morte celular programada mediante a condições de estresse provavelmente está ligada na regulação do transporte de fluidos nas membranas mitocondriais.

Apoio

UERGS – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul
UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
FAPERGS – Fundação de Amparo a pesquisa do Rio Grande do Sul
CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico