



Evento	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2015
Local	Porto Alegre - RS
Título	Caracterização funcional de aquaporinas de soja e seu papel no transporte de ureia.
Autor	BRUNA NITZKE MINUZZI
Orientador	FERNANDA STANISCUASKI

Caracterização funcional de aquaporinas de soja e seu papel no transporte de ureia.

Autor: Bruna Nitzke Minuzzi

Orientador: Fernanda Staniscuaski

Departamento de Biologia Molecular e Biotecnologia, UFRGS

Aquaporinas (AQPs) são proteínas de membrana encontradas tanto em seres procariotos quanto em eucariotos. Estes canais transportam, além de água, outras moléculas como ureia, ácido bórico, amônia, peróxido de hidrogênio, entre outros. A seletividade das moléculas transportadas ocorre pela presença de resíduos no filtro seletivo presente no interior do poro transmembrana. Em plantas, as aquaporinas são divididas em 5 subfamílias: Proteínas Intrínsecas de Membrana (PIPs), de Tonoplasto (TIPs), do tipo Nodulina-26 (NIPs), Pequenas (SIPs) e as Intrínsecas X (XIPs). Em soja (*Glycine max*), foram encontrados 66 genes de AQPs em seu genoma.

A ureia é o fertilizante nitrogenado de maior produção e consumo no Brasil. Sendo o nitrogênio um nutriente essencial para as plantas, estudar e entender os transportadores de ureia destes organismos é essencial para um possível melhoramento do metabolismo da ureia pelas plantas em sistemas agrícolas. Assim, o objetivo do projeto é caracterizar funcionalmente as AQPs da soja em relação às moléculas transportadas por estas proteínas, com ênfase no transporte de ureia.

Cinco genes de AQPs foram selecionados para a clonagem e caracterização: GmTIP1;6, GmTIP2;3, GmTIP2;7, GmTIP4;1 e GmPIP1;1. Estes genes, com seus respectivos primers já desenhados, foram amplificados através de PCR e clonados no vetor pGEM T-Easy (Promega). Após, foram subclonados no plasmídeo pYES (Invitrogen), para expressão em *Saccharomyces cerevisiae*. Para transformar células de levedura com o plasmídeo, foi utilizado choque térmico. Os transformantes foram selecionados em meio de cultura com deficiência em uracila. Para avaliação do transporte de diferentes solutos, duas linhagens de *S. cerevisiae* estão sendo utilizadas: YLL043W, com deleção no gene endógeno da aquagliceroporina Fps1, e YHL016C, o qual não possui o gene do transportador de ureia DUR3. A linhagem YLL043W foi utilizada para um ensaio de estresse hiperosmótico com cloreto de sódio, para confirmação da funcionalidade das proteínas expressas pelos genes clonados. Além disso, está sendo verificado por meio de ensaio de complementação funcional, o transporte de ácido bórico e peróxido de hidrogênio. Com a linhagem YHL06C, o transporte de ureia está sendo investigado. Os resultados preliminares indicam que todos os genes clonados expressam AQPs funcionais. Os ensaios de complementação funcional estão em andamento.