

Interação entre membros da família bHLH relacionados ao desenvolvimento de grãos em arroz

João Luiz de Meirelles; Franciele Ortolan ; Fernanda Lazzarotto ;
 Márcia Pinheiro Margis

Biociências – Genética molecular de plantas

Introdução

Os fatores de transcrição bHLH (*basic Helix-Loop Helix*) formam a maior família de fatores de transcrição em plantas, com 167 genes identificados em arroz (*Oryza sativa* L.). Entre suas funções estão a diferenciação epidérmica, sinalização de resposta a hormônios e fatores ambientais. Além disso, estes fatores são capazes de formar homo e heterodímeros, ampliando a rede regulatória que envolve estas proteínas. A fim de caracterizar o fator de transcrição bHLH35 em arroz, plantas superexpressando este gene foram geradas pelo nosso grupo de pesquisa. Estas plantas apresentaram alteração fenotípica nas anteras das suas flores (Figura 1), fenótipo de pálea e lema abertas e redução do número de sementes produzidas.

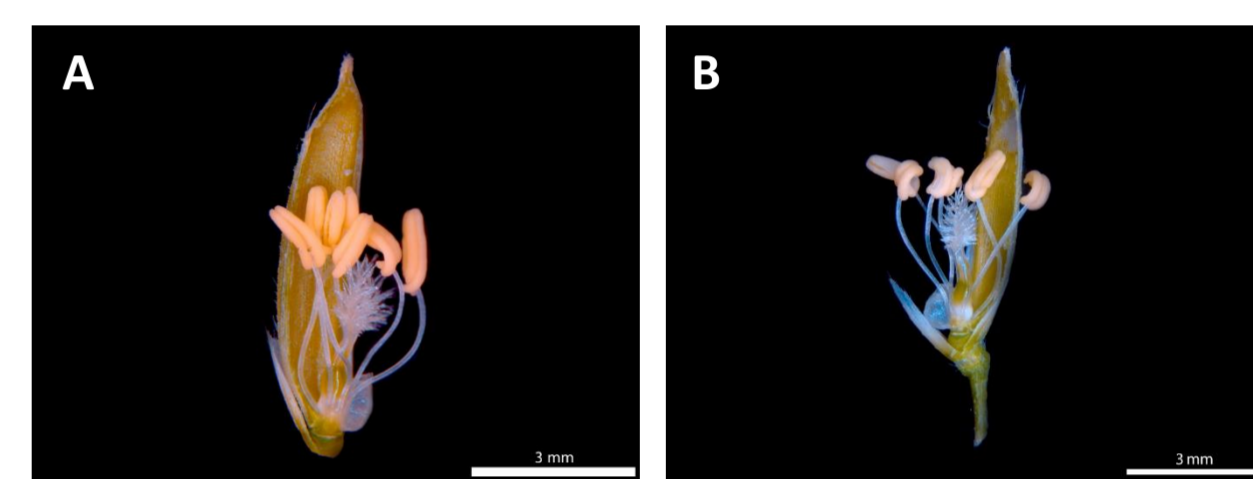
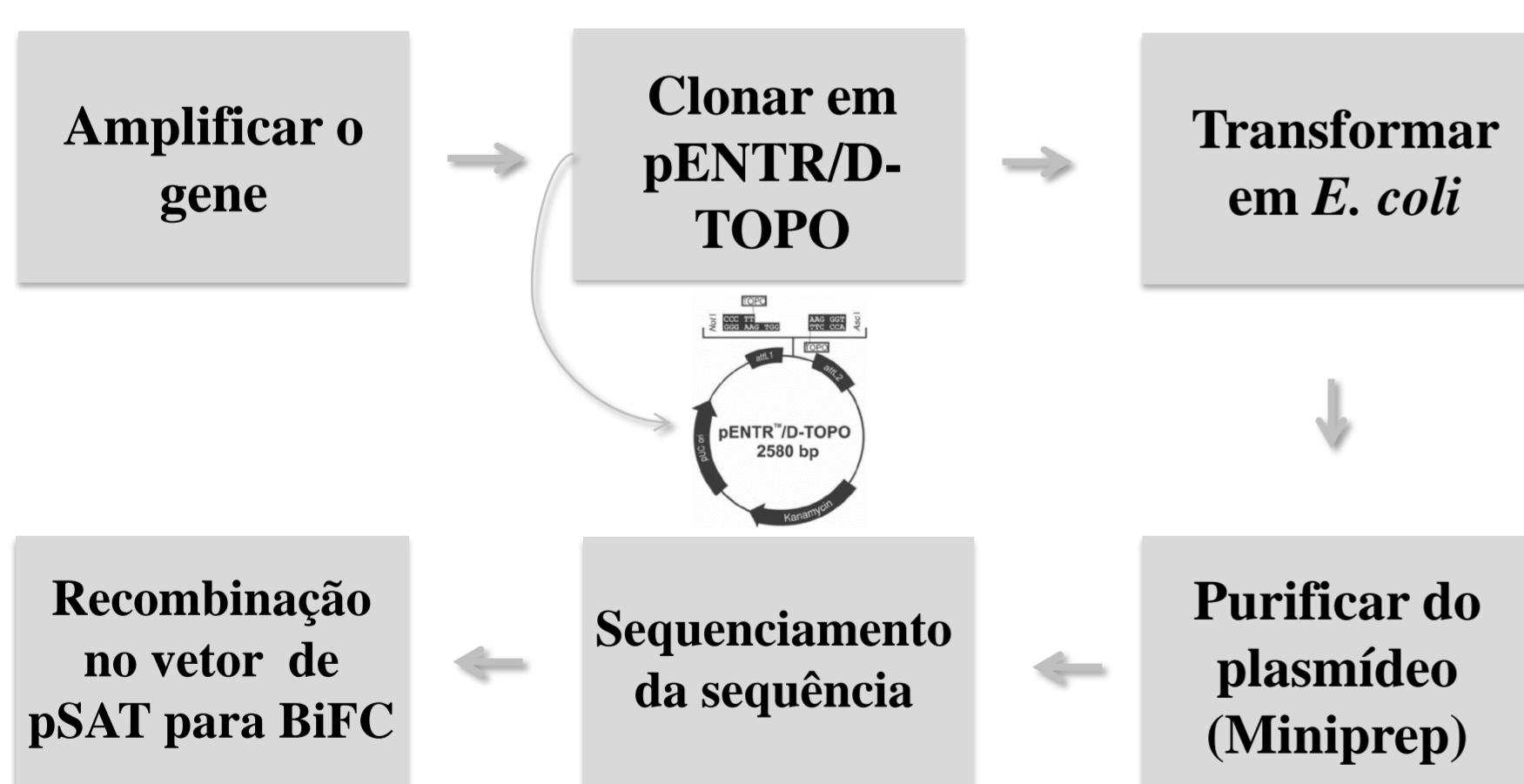


Figura 1. Flores representativas de plantas de arroz não-transformadas (A) e superexpressando o gene *OsbHLH35* (B).

Ao consultar a literatura observou-se que outros fatores de transcrição da família bHLH já haviam sido relatados como importantes para o processo de formação floral no arroz, dentre eles bHLH142, UDT1 (*Undeveloped Tapetum1*) e TDR (*Tapetum Degeneration Retardation*). A fim de entender como estes fatores de transcrição atuam na regulação do desenvolvimento floral, o objetivo deste projeto é testar a formação de homo e heterodímeros entre bHLH35 e as proteínas bHLH142, UDT1 e TDR por meio do ensaio de complementação bimolecular de fluorescência (BiFC) em protoplastos de *Arabidopsis thaliana*.

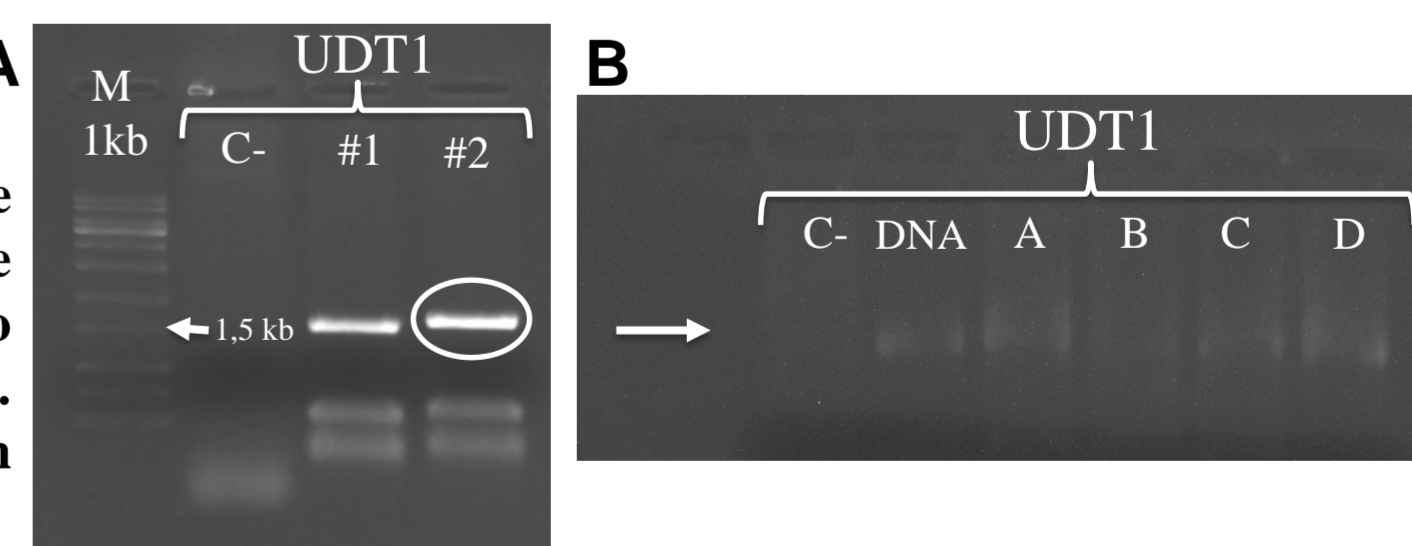
Materiais e métodos



Resultados

Em virtude do baixo nível de expressão dos genes de interesse, não foi possível amplificar as sequências codificadoras a partir de amostras de cDNA. Assim, optamos por utilizar amostras de DNA genômico para amplificar o gene codificador do fator de transcrição UDT1, o primeiro alvo clonado com sucesso no vetor de entrada (Figura 2). A

Figura 2. Amplificação de *OsUDT1* (1,58 kb) (A) e confirmação da clonagem do fragmento em 4 colônias de *E. coli* transformadas com PENTR/D-TOPO (B).



Perspectivas

Sequenciar a sequência de *OsUDT1* clonada no vetor de entrada, como confirmação de que esta não tem nenhuma mutação. Purificar a sequência de *OsbHLH142* e cloná-la em pENTR, e amplificar o gene codificador de TDR. Após, recombinar o pENTR de cada gene em vetores de BiFC (pSAT4, pSAT4A, pSAT5, pSAT5A) para análise da interação entre as proteínas.