

013

ISOLAMENTO DO GENE DA TRIPTOFANO-DESCARBOXILASE (TDC) E ANÁLISE DA EXPRESSÃO EM PSYCHOTRIA BRACHYCERAS. Sinara Artico, Paloma Menguer, Danielle Costenaro da Silva Serafim, Tatiana Schäffer Gregianini, Giancarlo Pasquali (orient.) (UFRGS).

Psychotria brachyceras (Rubiaceae) produz o alcalóide indólico monoterpênico (AIM) braquicerina, o qual possui atividades anti-inflamatória, sequestradora de oxigênio singlete e analgésica inespecífica. Sua síntese é afetada por danos, jasmonato e radiação UV. Pelo presente trabalho, temos como objetivo o isolamento do gene codificador da TDC, enzima envolvida nos passos iniciais da síntese de AIMs em plantas, bem como a caracterização da expressão do gene *tdc* em *P. brachyceras*. RNA total foi extraído de estacas contendo de 3 a 4 folhas submetidas (ou não) à luz UV-C por 24 h, folhas jovens e expandidas, caules verdes e lignificados, raízes, inflorescências, polpa de frutos e sementes, utilizando-se o protocolo PureLink Plant RNA Reagent (Invitrogen). O RNA total foi tratado com DNase I e a síntese de cDNA foi realizada com o kit Smart cDNA Synthesis (Clontech). Um oligonucleotídeo definido a partir do alinhamento das seqüências de mRNA e cDNA de *tdc* disponíveis no EMBL/GenBank, e um oligo(dT) foram empregados nas amplificações por PCR com Platinum Taq DNA Polymerase High Fidelity (Invitrogen). O produto da amplificação será purificado, clonado e o inserto seqüenciado e analisado utilizando-se programas computacionais adequados. Alíquotas dos cDNAs sintetizados a partir de diferentes amostras de *P. brachyceras* foram utilizados para a detecção e quantificação da expressão do gene *tdc* por PCR quantitativa em tempo real. Primers referentes à histona H2B e à α -tubulina foram utilizados para amplificar os respectivos fragmentos de genes constitutivos como referências nas análises. Até o momento, foram observadas diferenças significativas nos níveis de expressão de *tdc* entre tratamentos com UV-C e plantas-controle, e entre os diferentes órgãos e tecidos vegetais analisados