



Simpósio de Integração Acadêmica

“Bicentenário da Independência: 200 anos de ciência, tecnologia e inovação no Brasil e 96 anos de contribuição da UFV”

SIA UFV 2022



Mapeamento de elementos cis-regulatórios que controlam a atividade do repressor transcricional LIMYB em promotores regulados

Universidade Federal de Viçosa

Igor N. Soares¹; Elizabeth P. B. Fontes¹; Pedro A. B. dos Reis¹; Marco A. Ferreira¹; Ruan M. Teixeira¹.

¹Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa

E-mail: igor.n.soares@ufv.br/bbfontes@ufv.br/pedroreis@ufv.br/ruan.teixeira@ufv.br/marco.a.ferreira@ufv.br

Palavras-chave: NIK1, geminivirus, cis elementos

Grande Área: Ciências Biológicas e da Saúde

Área temática: Bioquímica

Categoria: Pesquisa

Introdução

O repressor LIMYB é um componente a jusante da via de defesa antiviral mediada pelo receptor NIK1 que controla a expressão de genes relacionados com tradução e fotossíntese. Nesta investigação foi mapeado elementos cis-regulatórios que funcionam como sítios de ligação de LIMYB a promotores de genes controlados pela sinalização celular iniciada pela ativação de NIK1.

Objetivos

- I. Determinar se LIMYB regula diretamente a atividade dos promotores de genes selecionados a partir do seu regulon;
- II. Analisar se os cis elementos previstos por ChIP-seq são cis-elementos funcionais requeridos para a atividade de LIMYB nestes promotores.

Material e Métodos

- I. Ensaio de transativação de promotores em folhas de *N. benthamiana*, cultivadas em solo (Metro Mix 366), em uma câmara de crescimento a 23°C e luz com foto período de 10h claro/14h escuro. Promotores dos genes RPL18 e RPL28 foram fusionados a luciferase e a atividade dos dois promotores avaliada na presença e ausência de LIMYB através de uma análise espectrofotométrica de atividade do gene repórter.
- II. Os promotores regulados por LIMYB foram truncados sendo avaliada a capacidade de LIMYB reprimir os promotores truncados.

Resultados e Discussão

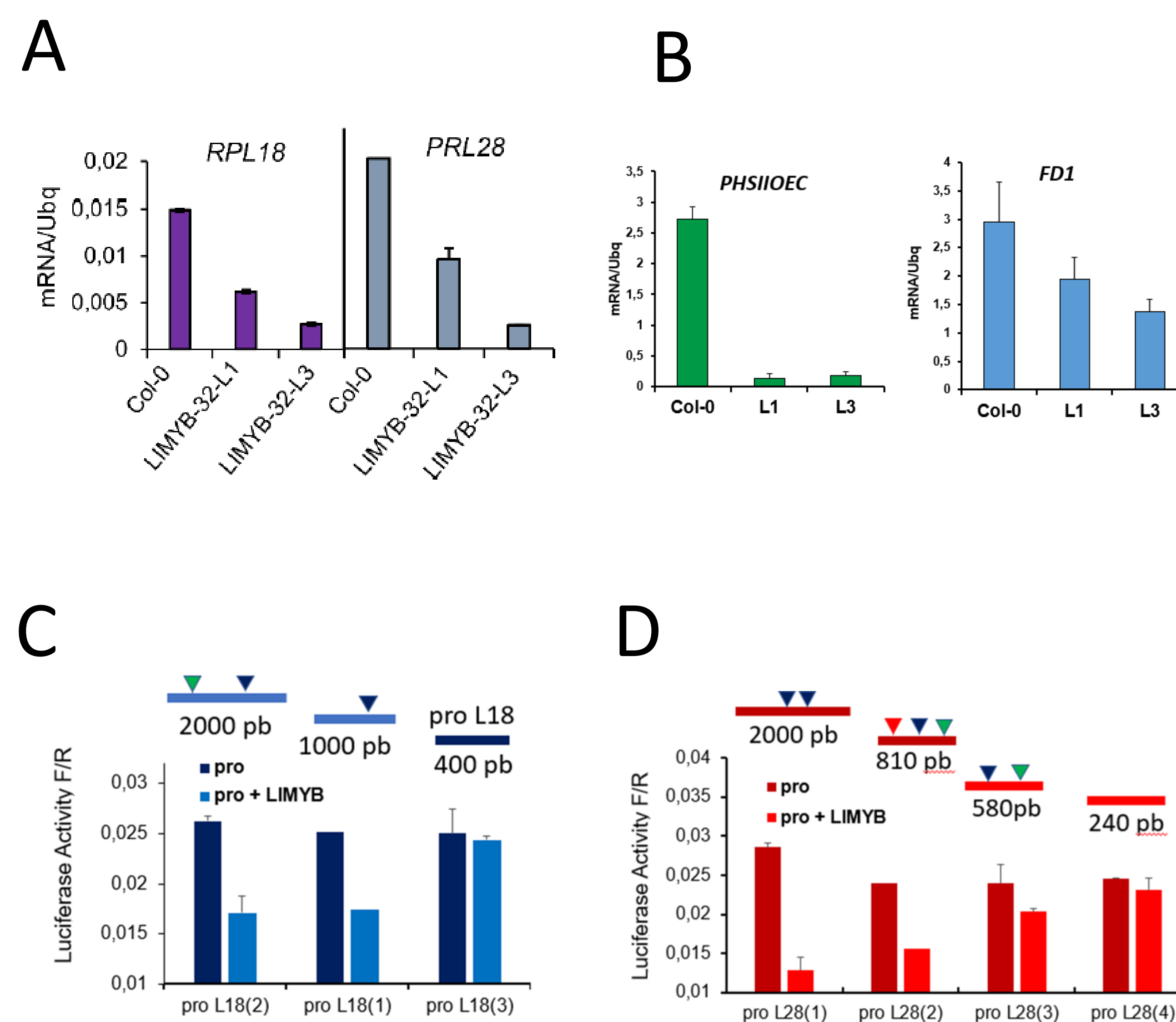


Figura 1. Atividade repressora de LIMYB em promotores selecionados. (A) Atividade de LIMYB em genes de proteínas ribossomais. A expressão gênica foi determinada por RT-qPCR de mRNA de linhagens superexpressando LIMYB e comparadas à linhagem Columbia-0 como controle. (B) Atividade de LIMYB em genes relacionados à fotossíntese. (C). Experimento de deleção das regiões contendo cis elementos do promotor RPL18. (D). Experimento de deleção das regiões contendo os cis-lementos do promotor RPL28. A expressão dos genes avaliados L18 e L28 e a expressão de LIMYB foi medida por ensaio de atividade de Luciferase Os dados são valores médios \pm DP.

Conclusões

Os resultados dessa investigação demonstraram que a atividade repressora transcricional de LIMYB depende dos elementos cis-regulatórios nos promotores regulados. Isso é evidenciado pelos níveis de expressão dos genes e de LIMYB em promotores truncados. A deleção dos elementos cis-regulatórios nos promotores truncados diminuiu a atividade repressora de LIMYB, sendo completamente extinta em promotores mínimos sem qualquer cis-elemento definido. Além disso, o nível de expressão dos genes variou de acordo com o nível de deleção desses cis-elementos.

Apoio Financeiro



Agradecimentos

