

Simpósio de Integração Acadêmica

“Ciências Básicas para o Desenvolvimento Sustentável”

SIA UFV 2023



MANIPULAÇÃO DE GENES PARA RESISTÊNCIA CONTRA BEGOMOVÍRUS

Nathália G. A. Ribeiro¹; Elizabeth P. B. Fontes¹; Pedro A. B. dos Reis¹.

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

e-mail: nathalia.gisele@ufv.br/bbfontes@ufv.br/pedroreis@ufv.br

Palavras-chave: LIMYB, purificação.

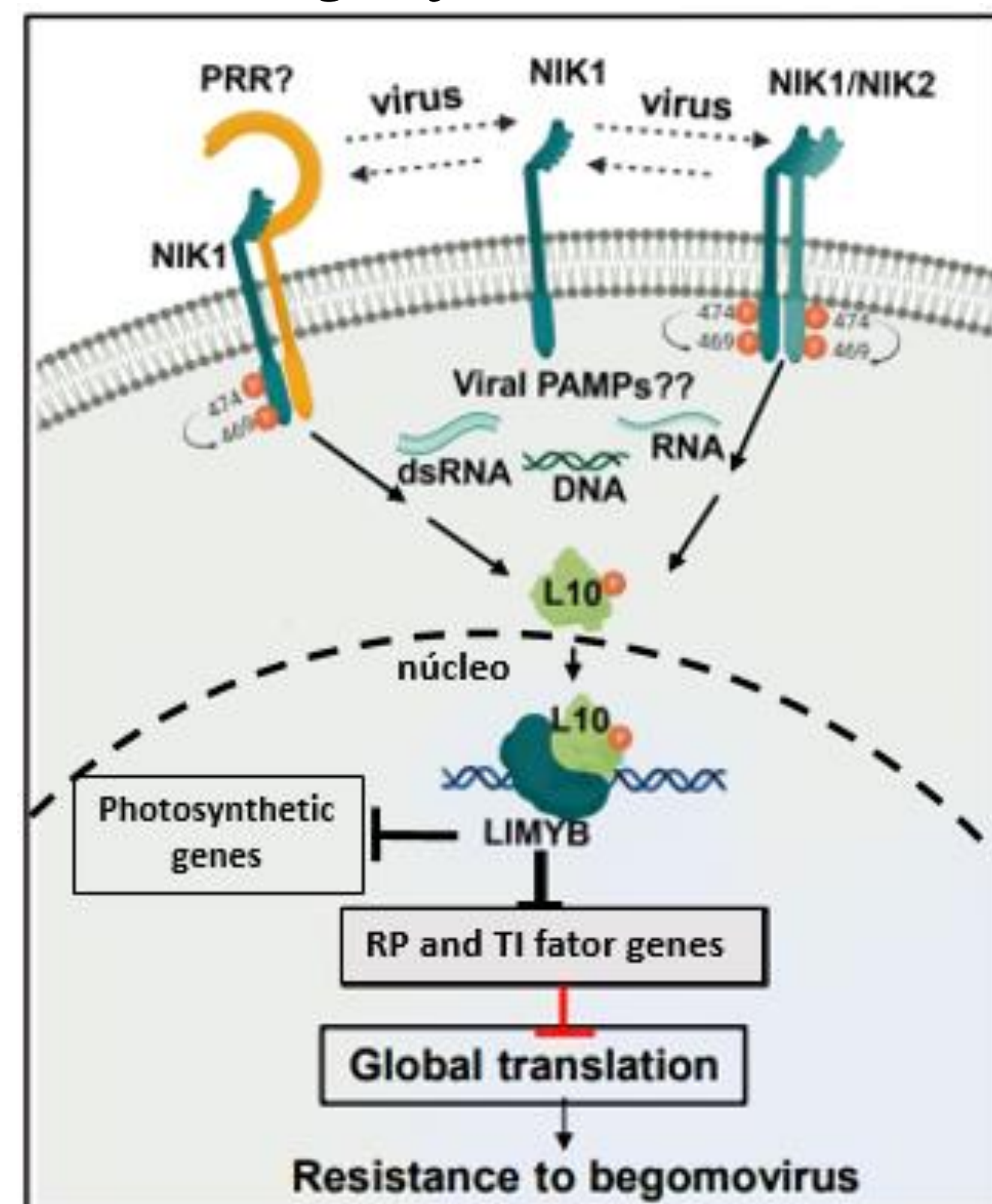
Grande Área: Ciências Biológicas

Área temática: Bioquímica

Categoria: Pesquisa

Introdução

Uma proteína de grande interesse de estudo como parte da resposta a estresses bióticos e abióticos é uma proteína com domínio Myb (*L10-interacting myb domain-containing protein* - LIMYB). A família de proteínas



MYB possui uma distribuição diversa entre os grupos de plantas e está muito bem caracterizada em *Arabidopsis thaliana*. Uma característica importante dessas proteínas é a capacidade de se ligar ao DNA, o que as torna importantes fatores de regulação. LIMYB é ativada mediante a percepção de diferentes estímulos pela proteína NIK1, como a infecção por Begomovírus e estresses abióticos. Como resposta, LIMYB atua na repressão de genes de proteínas ribossomais, proteínas fotossintéticas e de fatores de iniciação da tradução.

Figura 1: Desenho esquemático representativo da via antiviral mediada por NIK1.

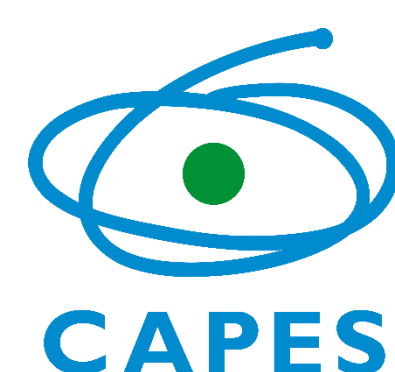
Objetivos

Elucidar o mecanismo pelo qual a proteína LIMYB interage com o DNA e demais componentes da via de sinalização antiviral a partir da purificação da proteína e de um ensaio de mudança de mobilidade eletroforética (EMSA).

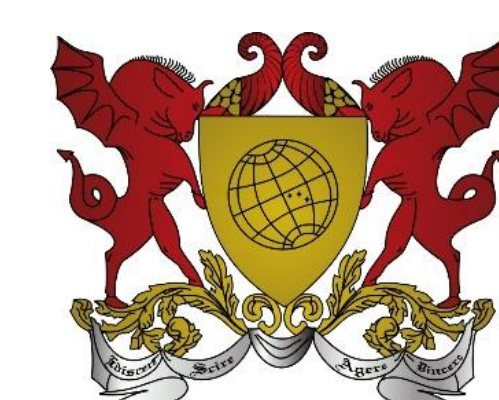
Conclusões

A proteína foi purificada com eficiência e será utilizada em ensaios de mudança de mobilidade eletroforética não radioativo (EMSA) a fim de investigar a interação entre LIMYB e o DNA. Elucidar o mecanismo de ação e as vias de sinalização em que a proteína LIMYB está envolvida em *Arabidopsis thaliana* pode tornar possível que o conhecimento acerca dessa proteína possa ser expandido e aplicado em outros gêneros e espécies de plantas cultiváveis.

Apoio financeiro



Agradecimentos



Material e Método

O cDNA da proteína LIMYB inserido no vetor pDEST-17 foi usado para transformar células competentes de *E.coli*, estirpe Rosetta (DE3). As colônias transformadas foram inoculadas em 5 mL de meio LB líquido com antibióticos de resistência (ampicilina e cloranfenicol). Após atingir OD 0,8, os inóculos foram tratados com IPTG (Isopropil β-D-1-tiogalactopiranosídeo) 0,8mM overnight a 30°C. As proteínas induzidas foram aplicadas em gel de poliácridamida, purificadas utilizando o protocolo de purificação His-Tag em condições não desnaturantes, e confirmadas por Western Blot das amostras.

Resultados e Discussão

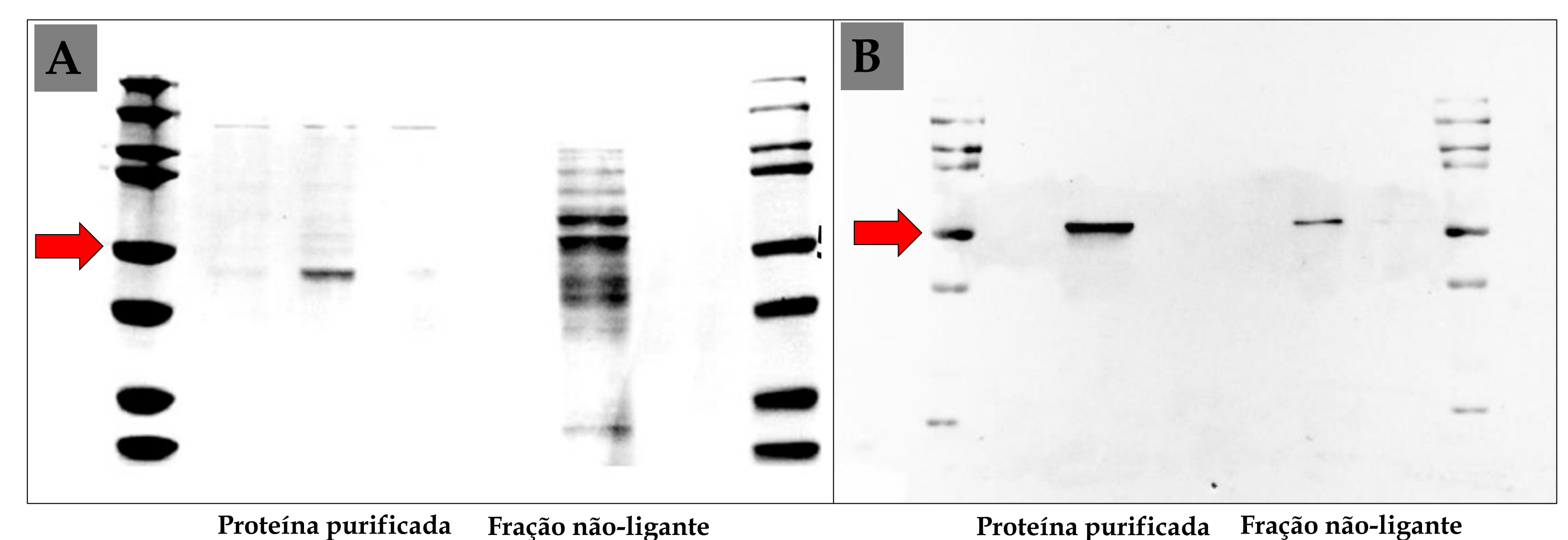


Figura 2: Purificação da proteína LIMYB. (A) Eletroforese em gel de poliácridamida. (B) Membrana de Western Blot, evidenciando a proteína purificada com aproximadamente 55kDa. Marcadores de peso molecular foram utilizados e a banda de 50kD foi evidenciada na figura pela seta vermelha.