

Ativação do módulo de sinalização NIK1-RPL10-LIMYB em resposta a EF-Tu bacteriana que desencadeia a imunidade engatilhada por PAMP em Arabidopsis.

Alice Ramos Constantino, Elizabeth Pacheco Batista Fontes, Marco Aurélio Ferreira e Pedro Augusto Braga dos Reis

ODS 2: Fome zero e Agricultura sustentável

Pesquisa

Introdução

A imunidade inata das plantas é iniciada pelo reconhecimento de PAMPs (padrões moleculares associados a patógenos) por receptores de membrana que desencadeiam respostas contra patógenos. NIK1 (*NSP-Interacting Kinase 1*) é uma proteína de membrana que é ativada mediante o reconhecimento de PAMPs, representados por ácidos nucleicos virais, e ativa uma resposta imune contra vírus. Quando ativada, a via de sinalização de NIK1, modula a fosforilação da proteína ribossomal RPL10, promovendo sua translocação ao núcleo e subsequente fosforilação e ativação do fator de transcrição LIMYB (*L10-Interacting Myb Domain-Containing Protein*), resultando na repressão de genes ligados à maquinaria de tradução e fotossíntese. Esse módulo de sinalização NIK1-RPL10-LIMYB, constitui um mecanismo conservado e essencial de respostas adaptativas em plantas, contribuindo para limitar a multiplicação de patógenos intracelulares, regular a tradução e a fotossíntese em condições de estresses. NIK1 é também reguladora negativa da resposta imune antibacteriana por interagir com FLS2 (Flagellin-Sensing2) e BAK1 (*Brassinosteroid Insensitive Associated Kinase1*). Na presença de flagelina, FLS2 a reconhece e em associação com BAK1, ativa a resposta imune. Entretanto, NIK1 também é fosforilada por BAK1, ocasionando a diminuição da tradução e fotossíntese. EFR (EF-Tu Receptor) que reconhece EF-Tu bacteriano, também recruta BAK1 para sua ativação. Na presença de flg22, um peptídeo ativo derivado da flagelina bacteriana, BAK1 é o responsável pela fosforilação da treonina 474 de NIK1. Esse evento bioquímico, é um passo crítico para ativação do módulo NIK1-RPL10-LIMYB em condições de estresses. Contudo, ainda não está completamente elucidado se a ativação do receptor EFR por EF-Tu também ativa o módulo NIK1-RPL10-LIMYB, similarmente quando FLS2 reconhece flg22. (Li et al., 2019)

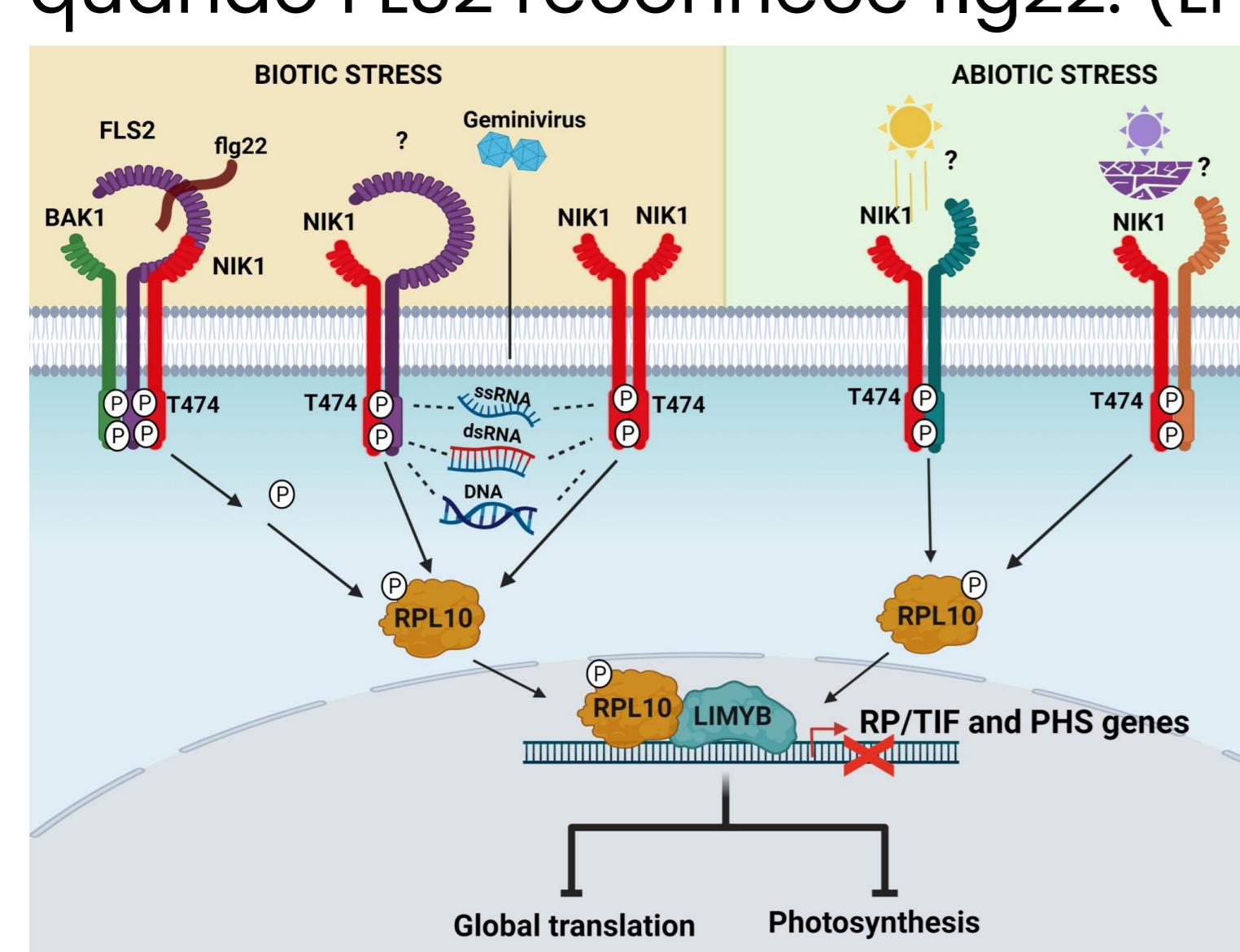


Figura 1. NIK1 é um centro de sinalização que atua como transdutor para diferentes receptores de detecção de estresse. Múltiplos estímulos abióticos e bióticos ativam a cascata de sinalização NIK1/RPL10/LIMYB, que coordena a regulação da tradução e da fotossíntese nas células vegetais. Propõe-se que o NIK1 transduz diferentes sinais abióticos e bióticos ao transmitir informações de diferentes receptores de detecção de estresse. Fonte: Ferreira et al., 2025

Objetivos

Avaliar experimentalmente a ativação da via NIK1 em resposta ao tratamento com o peptídeo EF-Tu.

Metodologia

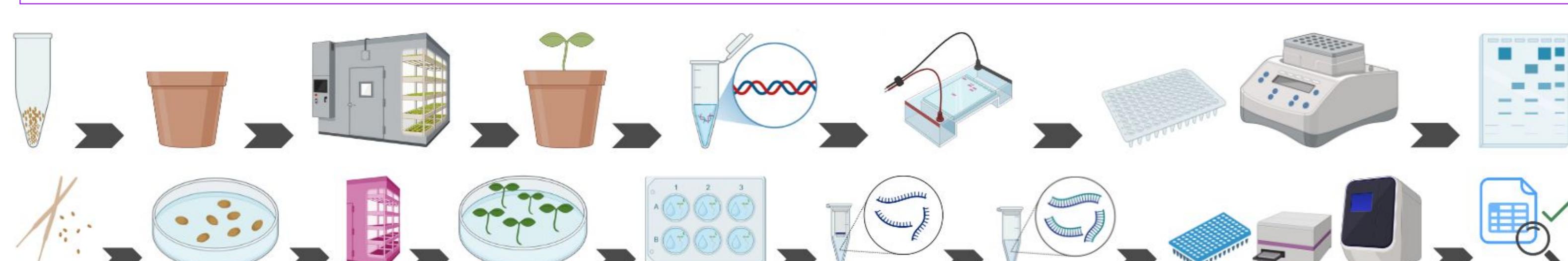


Figura 2. Foram obtidas plantas do tipo selvagem (Col-0), mutantes nulos por inserção de T-DNA *etr* e *baki-4*, o duplo-mutante *nik1/nik2* e *NIK1-T474D-6*, uma linhagem que expressa a proteína NIK1 constitutivamente ativa. A confirmação genotípica dessas linhagens foi realizada por PCR convencional e qRT-PCR. Após a validação, as plantas foram tratadas com EF-Tu e, em seguida, realizou-se a extração de RNA total. O RNA foi convertido em cDNA e por RT-qPCR foi avaliada a expressão de genes marcadores da via NIK1.

Apoio Financeiro

Resultados

A genotipagem por PCR assegurou a correta seleção dos genótipos *etr* (Figura 3a) e *nik1/nik2* (Figura 3b e 3c).

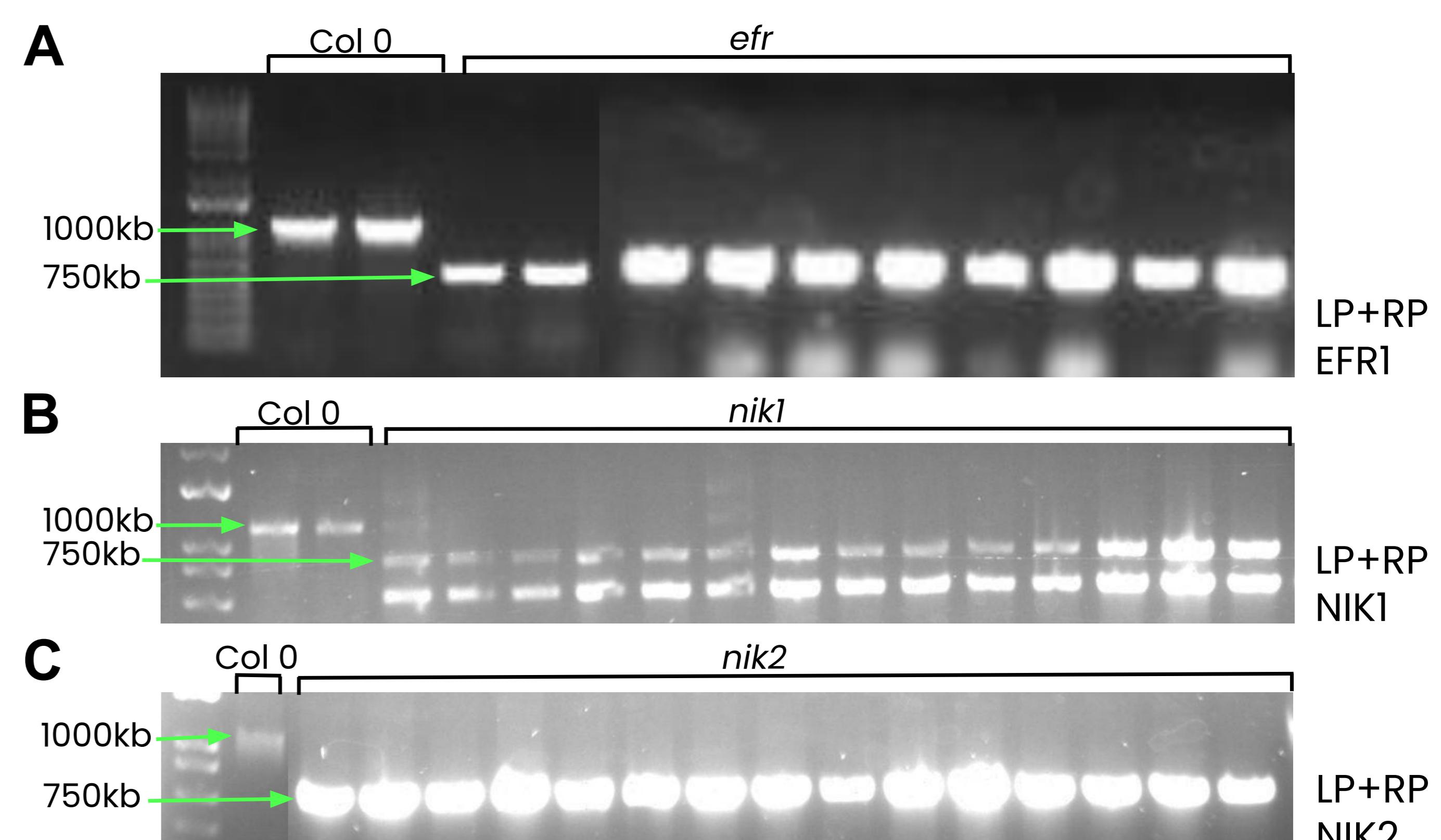


Figura 3. Avaliação de nocautes dos genes *etr*, *nik1/nik2* por PCR.

A análise de qPCR em tempo real evidenciou o silenciamento dos genes *NIK1/NIK2* (Figura 4a e 4b) e *EFR* (Figura 4c), indicando níveis de expressão gênica nulos em comparação ao genótipo selvagem (Col-0).

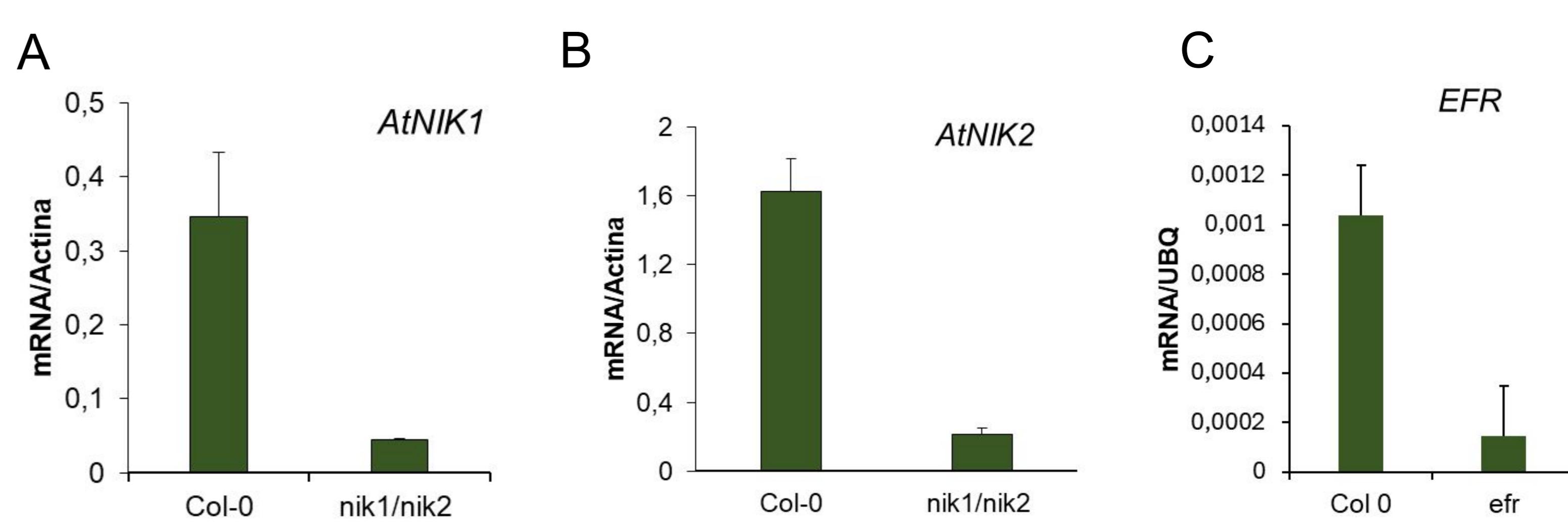


Figura 4. Resultados obtidos por qPCR em tempo real a fim de avaliar o silenciamento dos genes *nik1/nik2* e *efr* em comparação a Col 0.

Conclusão

Espera-se que o reconhecimento de EF-Tu e ativação do complexo imune EFR-BAK1 ativem o módulo NIK1-RPL10-LIMYB, de forma semelhante à ativação de FLS2-BAK1 na presença de flg22, expandindo ainda mais a compreensão da imunidade vegetal induzida por PAMPs.

Bibliografia

LI, Bo et al. The receptor-like kinase NIK1 targets FLS2/BAK1 immune complex and inversely modulates antiviral and antibacterial immunity. *Nature communications*, v. 10, n. 1, p. 4996, 2019.

FERREIRA, Marco Aurélio et al. The immune NIK1/RPL10/LIMYB signaling module regulates photosynthesis and translation under biotic and abiotic stresses. *Nature Communications*, v. 16, n. 1, p. 4433, 2025.