

Propostas de Planos de Tese de Mestrado
Instituto de Tecnologia Química e Biológica
Genomics of Plant Stress Laboratory (GPlantS lab)



TEMA V

1. Título

Impacto de stresses abióticos na remodelação da cromatina e na metilação do DNA

2. Identificação dos orientadores

O trabalho será desenvolvido sob a orientação científica da Doutora Ana Paula Santos.

3. Resumo do projecto

Introdução

O efeito de stresses ambientais na remodelação da cromatina / genoma não é bem conhecido. Uma abordagem citogenómica baseada em métodos de Hibridação *in situ* (FISH) tem-nos permitido avaliar a plasticidade da organização da cromatina ribossomal interfásica de arroz em resposta a diferentes stresses ambientais. A salinidade, por exemplo, causa alterações dramáticas em domínios heterocromáticos, nomeadamente descondensação da cromatina ribossomal (45S rDNA), e na disposição espacial de genes no núcleo interfásico (Santos *et al.* 2011). Para além destas alterações nos domínios de hetero/eucromatina no núcleo interfásico são expectáveis outras alterações no genoma nomeadamente de natureza epigenética que podem estar na base da enorme plasticidade que as plantas evidenciam na resposta ao stress. A 5-azacitidina (5-AC), uma droga que induz a hipometilação do DNA também causou uma extensa descompactação da cromatina interfásica e induziu a polarização de centrómeros em núcleos meristemáticos da raiz de arroz sugerindo uma correlação entre a metilação do DNA e a organização da cromatina e territórios cromossómicos (Santos *et al.* 2011).

Objectivo

Correlacionar a organização funcional da cromatina interfásica de arroz em diferentes situações de stress abiótico com níveis (qualitativos e quantitativos) de metilação.

Metodologias:

- (1) A análise citogenómica consistirá na utilização da técnica de Hibridação *in situ* (FISH) conjugada com a imunodeteção com um anticorpo para a 5-metilcitosina em secções de tecido da raiz de arroz e/ou células em cultura seguida por uma análise de microscopia confocal.
- (2) Os métodos moleculares de análise de metilação incluem a um nível mais global a técnica de cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) e a um nível mais específico, com enfoque em genes induzidos transcricionalmente pelo stress abiótico, a técnica de "Southern blot" utilizando enzimas sensíveis à metilação.

4. Local de trabalho

O trabalho será desenvolvido no "Genomics of Plant Stress Laboratory", Instituto de Tecnologia Química e Biológica, ITQB, Avenida da República (EAN) 2781-901 OEIRAS, Portugal.

4. Duração aproximada: A duração aproximada é de 9 meses.

6. Número de alunos por projecto: Um aluno

7. Contacto

Doutora Ana Paula Santos;

apsantos@itqb.unl.pt

Genomics of Plant Stress Laboratory, ITQB

Avenida da República (EAN)

2780-157 OEIRAS

+351 214469644

Santos AP, Ferreira L, Maroco J, Oliveira M: Abiotic stresses and induced DNA hypometylation causes interphase chromatin structural changes in the rice rDNA loci. *Cytogenet Genome Res* 2011, 132; 297-303.