

## **Identificação e caracterização funcional de proteínas que interagem com o factor de transcrição OsEREBP1 de arroz**

Portugal é o maior consumidor de arroz da Europa, com valores superiores a 17kg/capita/ano. Em Portugal a produção de arroz é restrita a 5 rios (Mira, Sado, Sorraia, Tejo, and Mondego), sendo a elevada salinidade dos solos, um dos maiores problemas dos agricultores, pois tem efeitos muito negativos no crescimento e produtividade das plantas de arroz. No entanto, as plantas de arroz têm a capacidade de responder e adaptar-se a condições de stress através da regulação transcricional e pós traducional de vários genes de resposta ao stress, como por exemplo aqueles que codificam para factores de transcrição. O conhecimento dos mecanismos moleculares envolvidos na resposta das plantas ao stress salino é essencial, pois permitirá identificar genes chave que, no futuro, poderão ser utilizados no melhoramento das plantas de modo a torná-las mais tolerantes ao stress abiótico, nomeadamente à salinidade. Ao longo dos últimos anos no nosso laboratório foram identificados mais de trinta factores de transcrição envolvidos na resposta ao stress abiótico. Entre estes, foi identificado o OsEREBP1, o qual regula um gene altamente induzido pela salinidade (*OsRMC*). Dado que o OsEREBP1 não é regulado ao nível transcricional, a sua regulação deverá ocorrer essencialmente ao nível pós traducional. Este projecto tem como objectivo principal tentar perceber de que modo é que a actividade do factor de transcrição OsEREBP1 é regulada através da interacção com outras proteínas, nomeadamente modificadores pós-traducionais. Assim, as tarefas deste projecto são as seguintes:

- 1 – Construção do plasmideo necessário para proceder ao “screening”, utilizando a técnica de “Yeast two Hybrid”
- 2 – Identificar proteínas que se ligam ao OsDREB1B através do “screening” da biblioteca de expressão de cDNA, utilizando a técnica de “Yeast two Hybrid”
- 3 – Validação das interacções proteína - proteína por outras técnicas (“pull down assays”, “Co-immunoprecipitation” e Bimolecular Fluorescence Complementation”).
- 4 – Caracterização funcional das interacções proteína - proteína utilizando linhas mutantes de arroz.

A identificação de proteínas que interagem com OsEREBP1 será inicialmente realizada pela técnica de Yeast two-Hybrid. Como alternativa ou em paralelo poderemos também utilizar a técnica de Tandem Affinity Purification (TAP)-tag, sendo que para isso será necessário transformar células de arroz com uma construção adequada, isolar os complexos e identificar as proteínas por espectrometria de massa. Depois da identificação das proteínas e da validação da interacção proteína – proteína será essencial testar a função das novas proteínas em mutantes de arroz.

Técnicas que serão utilizadas no âmbito deste projecto:

- clonagem de fragmentos de DNA em plasmídeo por enzimas de restrição e utilizando o sistema GATEWAY, transformação de bactérias e leveduras, "Yeast two Hybrid screening", amplificação de DNA por PCR e análise por electroforese, "pull down assays", "Co-immunoprecipitation", "Bimolecular Fluorescence Complementation", expressão de proteínas in vitro, SDS-PAGE e Western blotting, preparação e transformação de protoplastos de Arabidopsis, transformação transiente de plantas de tabaco, etc

Duração: 9 meses.

Local de realização: Laboratório de Genómica de Plantas em Stress, Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Oeiras

Número de estagiários: 1

Critério de selecção: avaliação do cv e entrevista

Orientador: Nelson Saibo,

Email: [saibo@itqb.unl.pt](mailto:saibo@itqb.unl.pt)

Tel: 214469644