

# CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DO FACTOR DE TRANSCRIÇÃO ICE1 DE ARROZ

## Plano do projecto

As baixas temperaturas são um dos factores ambientais que mais afecta o desenvolvimento e produtividade do arroz. Em Portugal, por exemplo, este factor ambiental impede a produção de arroz a norte do Mondego. A resposta e adaptação das plantas de arroz ao frio consiste numa série de alterações nos seus processos fisiológicos, bioquímicos, celulares e moleculares. Estas respostas envolvem a expressão diferencial de muitos genes, sendo estes regulados através de vários factores de transcrição (FT). Um dos FT chave nesta resposta é o ICE1 (“master gene”), o qual regula a expressão de outros TF a jusante na cadeia de transdução de sinal, e assim controla a expressão de vários genes de resposta ao frio. O ICE1 por sua vez é altamente regulado ao nível pós traducional. O principal objectivo deste projecto é a caracterização funcional deste factor de transcrição, de modo a aprofundar o nosso conhecimento em relação aos mecanismos moleculares que, em última instância, determinam a resposta ao frio e identificar alvos que possam ser utilizados no futuro para gerar plantas com maior tolerância a este stress ambiental.

No nosso laboratório temos produzido várias ferramentas que nos irão permitir estudar em pormenor a função do ICE1. Essas ferramentas são: plantas de arroz e plantas de *Arabidopsis* a sobre-exprimir o gene *OsICE1*, plantas de arroz a silenciar o gene *OsICE1*, plantas de arroz transformadas com a construção *OsICE1::TAP-tag*, biblioteca de cDNA de arroz de expressão induzida pelo frio (para utilizar nas técnicas de “Yeast One-Hybrid” e “Yeast Two-Hybrid”) e anticorpo policlonal contra a proteína *OsICE1*.

Tarefas que serão realizadas durante este projecto, utilizando as ferramentas descritas anteriormente:

- 1- Análise fisiológica e molecular das plantas a sobre-exprimir (arroz e *Arabidopsis*) e silenciar (arroz) o gene *OsICE1*
- 2- Purificação do anticorpo específico para o *OsICE1* e estudo da estabilidade da proteína *OsICE1* (em condições controlo vs. stress de frio).
- 3- Estudo da interacção do factor de transcrição *OsICE1* com outros reguladores proteicos através da técnica de “Yeast Two-Hybrid”
- 4- Análise da interacção do *OsICE1* com o promotor do gene *OsDREB1A*.

Técnicas que poderão ser praticadas durante a realização deste projecto:

- a) SDS-PAGE e Western blotting
- b) Northern blotting
- c) Yeast two-Hybrid
- d) Electrophoretic Mobility Shift Assay (EMSA)
- e) Real time RT-PCR
- f) Electrolyte leakage
- g) Imunolocalização

**Duração e carga horária:** de 6 meses a um ano, 35 horas semanais.

**Local de realização:** Laboratório de Engenharia Genética de Plantas, Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Oeiras

**Orientador:** Nelson Saibo, [saibo@itqb.unl.pt](mailto:saibo@itqb.unl.pt)

Tel:214469644

**Numero de estagiários:** 1