



Evento	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2015
Local	Porto Alegre - RS
Título	Caracterização funcional de aquaporinas de soja
Autor	BRUNA BITENCOURT DA COSTA
Orientador	FERNANDA STANISCUASKI

Caracterização funcional de aquaporinas de soja
Autor: Bruna Bitencourt da Costa
Orientador: Fernanda Staniscuaski
Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

As aquaporinas, também conhecidas como Proteínas Intrínsecas de Membrana (MIPs, *Major Intrinsic Proteins*), são proteínas de membrana presentes em bactérias, fungos, plantas e animais, responsáveis pelo transporte de água e pequenos solutos. Estão envolvidas em uma série de processos fundamentais para o crescimento e desenvolvimento vegetal, como respostas a estresses e nutrição mineral. Além do transporte de água, elas transportam outras moléculas como ureia, peróxido de hidrogênio, ácido bórico, ácido silícico, amônia e dióxido de carbono. Estão envolvidas também, na absorção de nutrientes e fixação de carbono e nitrogênio. Em soja (*Glycine max*), foram encontrados 66 genes de AQPs em seu genoma.

O objetivo deste projeto é caracterizar funcionalmente as AQPs encontradas em soja em relação às moléculas transportadas por estas proteínas. Dois genes de AQPs de soja, *GmTIP3;2* e *GmNIP2;2*, foram clonados e posteriormente expressos em leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), para realização de um ensaio de complementação funcional.

Primers específicos para estes genes foram desenhados e utilizados para a amplificação do cDNA completo por PCR. Os produtos da PCR foram clonados em sistema pGEM-T Easy (Promega) e sequenciados para confirmação da obtenção do cDNA completo. Após confirmação por sequenciamento, os genes de interesse foram então clivados do vetor pGEM-T Easy e inseridos no mesmo sítio do plasmídeo pYES2 (Invitrogen), para expressão em *S. cerevisiae*.

Uma linhagem mutante de *S. cerevisiae*, onde o gene da aquagliceroporina endógena é deletado, foi utilizada para os ensaios. A transformação das células competentes de levedura com o plasmídeo contendo a construção desejada foi realizada por choque térmico. Transformantes foram selecionados em meio de cultura para levedura na ausência de uracila. Uma única colônia recombinante foi selecionada para os testes de complementação funcional. Um ensaio de estresse hiperosmótico foi utilizado para verificação da produção de uma proteína funcional a partir dos genes recombinantes. Para o ensaio de transporte de moléculas específicas o meio de cultura foi suplementado com diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio e boro, e o crescimento das leveduras foi acompanhado por três dias.

Os resultados preliminares indicam que as duas AQPs testadas formam canais funcionais, além de serem transportadoras de peróxido de hidrogênio. Boro parece não ser um substrato para estes canais. Ensaio com outras moléculas conhecidamente transportadas por AQPs estão em andamento.