

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E FUNCIONAL DO GENE OPACO2 DE *COIX*

Adilson Leite (autor principal, responsável e expositor), André L. Vettore, Paulo Arruda. FAPESP/CNPq/UNICAMP

Coix lacryma-jobi L., juntamente com milho, sorgo e tripsacum, pertence a família Gramineae e a tribo Andropogonea. Nos membros desta tribo, as proteínas de reserva mais abundantes são representadas pelas prolaminas, constituindo 50 a 70% da proteína total do endosperma. As a-prolaminas correspondem a cerca de 70% das prolaminas totais de milho, sorgo e *Coix*. As prolaminas são codificadas por genes homólogos que são expressos de forma coordenada no endosperma destas espécies. Um grande número de mutações afetando o acúmulo de prolaminas de milho (zeínas) têm sido descritas. Nos mutantes *opaco2* (*o2*) ocorre um grande decréscimo do conteúdo das a-zeínas de 22 kDa. O gene *Opaco2* (*O2*) codifica um transativador da classe estrutural das bZIPs, e liga-se a um sítio específico do promotor nos genes de a- e b-prolaminas. Com o intuito de identificar motivos funcionais conservados, foram isolados clones de cDNA e genômicos de *O2* de *Coix*. Estes clones foram caracterizados e sequenciados revelando que a região estrutural do gene é interrompida por 5 introns, sendo que o polipeptídeo de 408 aminoácidos é codificado por 6 exons. A comparação da sequência deduzida de aminoácidos mostrou que a proteína *O2* de *Coix* é similar a descrita para a linhagem W22 de milho. Esta comparação demonstrou ainda que a região correspondente aos domínios básico e zíper de leucinas é altamente conservada nas proteínas de *Coix*, milho e sorgo. Análises de RNA mostraram que, transcritos do gene *O2* encontram-se, especificamente, no endosperma das sementes de *Coix*, e que, estes transcritos são acumulados durante o desenvolvimento das sementes. Experimentos de ligação seletiva e "footprinting" demonstraram que as proteínas *O2* de *Coix* e de milho, reconhecem, como sítio alvo, o sítio *O2a* nas a-zeínas e o sítio *O2c* nas a-coixinas. A análise filogenética, baseada na similaridade dos domínios bZIP, de 50 proteínas de plantas indica a existência de 5 famílias distintas de proteínas bZIP em plantas. As proteínas *O2* foram classificadas juntamente com as proteínas OHP1, OsBZIPPA, SPA, CPRF2 e RITA1.