



Evento	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2015
Local	Porto Alegre - RS
Título	Identificação de novas enzimas relacionadas ao metabolismo de triglicerídeos em mamona (<i>Ricinus communis</i>)
Autor	THOMAZ STUMPF TRENZ
Orientador	FELIPE DOS SANTOS MARASCHIN

Identificação de novas enzimas relacionadas ao metabolismo de triglicérides em mamona (*Ricinus communis*)

Thomaz Stumpf Trez¹; Andreia Carina Turchetto-Zolet¹; Marcia Margis-Pinheiro¹; Rogerio Margis^{2,3}; Felipe dos Santos Maraschin⁴

¹Departamento de Genética, ²Centro de Biotecnologia, ³Departamento de Biofísica, ⁴Departamento de Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Triacilgliceróis (TAGs) são a principal forma de estoque de lipídeos em sementes de plantas. As propriedades químicas dos TAGs dependem da composição de seus ácidos graxos. As Diacilglicerol Aciltransferases (DGATs) são as principais enzimas para a biossíntese de TAGs. Diferentes tipos de DGATs (nomeados como DGAT1, DGAT2, DGAT3 e DAcT) já foram identificados em plantas. DGAT1 e DGAT2 são bem caracterizados, mas pouco é sabido sobre DGAT3 e DAcT na maioria das espécies. O entendimento da via enzimática da biossíntese de TAG, e sua regulação transcricional em plantas, é importante para ajudar a melhorar o conteúdo de óleos nutricionais e industriais. DAcT, ou diacilglicerol-acetiltransferase, foi primeiramente descoberta em *Euonymus alatus* e parece estar relacionada com enzimas do tipo DGAT. Essa enzima catalisa a condensação do acetil-CoA até o diacilglicerol para a formação do 1,2-diacil-3-acetil-sn-glicerol, ou simplesmente “ac-TAGs”. Esses óleos diacilglicerol sn-3-acetilados são abundantes em *Euonymus* e apresentam uma redução na viscosidade de 30%. As DGAT3 foram primeiramente relatadas em amendoim e são únicas devido a sua localização citoplasmática e pela falta de um domínio transmembrana. Nosso objetivo é identificar e caracterizar a DGAT3 e a DAcT de mamona (*Ricinus communis*). Neste trabalho identificamos no genoma da mamona 4 diferentes ortólogos da DAcT (DAcTA, DAcTB, DAcTC e DAcTD) e um ortólogo da DGAT3. As sequências codificantes desses genes foram clonadas e sequenciadas. Via RT-qPCR, caracterizamos o padrão de expressão das DAcTs e DGAT3 em 5 diferentes estágios do desenvolvimento da semente de mamona, onde verificamos que DGAT3 é ativamente expresso; entretanto, por esta técnica, não foi possível identificar expressão considerável das DAcTs no desenvolvimento da semente de mamona. Através da expressão em protoplastos de folhas de *Arabidopsis thaliana* de fusões traducionais a YFP, tanto a DGAT3 e a DAcTA foram visualizadas em microscópio confocal para identificar sua localização subcelular. A DAcTA parece se comportar igual as outras DGATs, associando-se a membranas do retículo endoplasmático; porém, DGAT3 pareceu ter uma localização diferente das outras DGATs, que foi confirmada como citoplasmática. Linhagens transformantes estáveis em *A. thaliana* superexpressando DGAT3-CFP foram obtidas via transformação com *Agrobacterium tumefaciens*. Sementes T3 homozigotas dessas plantas foram coletadas para caracterização qualitativa e quantitativa de lipídeos neutros, via cromatografia gasosa (GC-FID), assim como para purificação e teste da atividade enzimática de DGAT3. Quando expressas em leveduras mutantes, incapazes de produzir triglicérides, tanto DAcTA quanto DGAT3 foram capazes de complementar a síntese de TAGs, demonstrando sua atividade bioquímica na síntese de lipídeos. A análise quantitativa por GC-FID destes TAGs produzidos nas leveduras possibilitará uma melhor caracterização do papel destas enzimas no metabolismo lipídico.