

EXPRESSÃO HETERÓLOGA DA PROTEÍNA NCED ISOLADA DE FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata*)

HETEROLOGOUS EXPRESSION OF NCED PROTEIN ISOLATED FROM FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata*)

Chaves, FFA¹; Pereira, KMC¹; Meneses, CHSG¹

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Universidade Estadual da Paraíba – CNPj: 12.671.814/0001-37 Rua Baraúnas, 351 – Bairro Universitário - Campina Grande – PB CEP: 58.429-500.
fabriaciac.fc@gmail.com; kathy.maciel08@gmail.com; chmeneses@gmail.com

Previsões recentes têm mostrado uma alteração significativa nas condições climáticas globais, com mudanças significadas no que refere-se aos índices pluviiais o que poderá trazer prejuízos para diversas espécies vegetais. Em condições tropicais, onde as chuvas são naturalmente mais escassas, os efeitos deletérios das mudanças climáticas podem ser ainda mais prejudiciais acarretando diminuição de produtividade significativa. Devido a sua característica séssil as plantas desenvolveram diversos mecanismos de tolerância que possibilitam a conclusão do ciclo de vida mesmo em ambiente sob estresse. A tolerância ao estresse hídrico em plantas é uma característica complexa relacionada com vários mecanismos bioquímicos e moleculares; no entanto, diversos genes relacionados à tolerância já foram isolados e caracterizados. O feijão-caupi constitui-se uma espécie bastante interessante para a identificação de genes relacionados com o processo de tolerância, pois apresenta boa tolerância a estresse hídrico. Com o objetivo de contribuir para a compreensão dos processos bioquímicos envolvidos nessa última característica, um gene de feijão-caupi relacionado à sua tolerância ao estresse hídrico foi clonado e a proteína para a qual este gene codifica expressa *in vitro*. A região codificadora do gene denominado NCED foi amplificada por PCR a partir de um clone isolado de uma biblioteca de cDNA construída a partir de nódulos submetidos a estresse hídrico. A amplificação foi realizada em duas etapas para inclusão dos sítios de recombinação necessários para a clonagem do produto de PCR nos vetores pDONR201, pDEST17 e pDEST24 do Sistema Gateway (Invitrogen). Após as reações de recombinação os clones foram utilizados para a transformação de *Escherichia coli* DH10B. Para confirmação da clonagem, o DNA plasmidial extraído das bactérias transformadas foi digerido com as endonucleases de restrição *HindIII*, *EcoRI* e *PvuI* e, o tamanho dos fragmentos verificado através de eletroforese em gel de agarose. A expressão da proteína foi induzida com IPTG e a proteína purificada foi visualizada através de eletroforese em gel de poliacrilamida. Através destes experimentos foi possível obter a sequência codificante do gene NCED clonado em diferentes vetores de interesse (pDONR201, pDEST17 e pDEST24) e a proteína expressa em bactérias isoladas. Foi possível expressar *in vitro* o gene NCED, que codifica uma enzima chave na biossíntese do ABA em algumas leguminosas sob déficit hídrico, em *E. coli*.

Palavras-chave: Estresse hídrico, Gene de tolerância, Expressão em *E. coli*.

