



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO
FIT 798 – SEMINÁRIOS EM GENÉTICA E MELHORAMENTO

Prelecionista: Iara Pinheiro Calil

Orientador: Prof^a Elizabeth Pacheco Batista Fontes

Caracterização funcional da proteína AtWWP1, componente de uma interconexão de fatores da interação geminivírus-hospedeiro envolvido na formação de corpos subnucleares

Plantas estão envolvidas em uma contínua batalha co-evolutiva com seus patógenos, e os resultados dessas interações são de particular importância nas atividades humanas, em vista de seus impactantes efeitos na agricultura (Dodds & Rathjen, 2010). Recentemente, a convergência de estudos moleculares envolvendo o sistema imune da planta e a infecção por patógenos revelaram um panorama integrado de interações planta-patógeno (Mukhtar *et al.*, 2011) em que as interações dos efetores de virulência convergem para subconjuntos de proteínas do hospedeiro altamente interconectadas e designadas “hubs”. Considerando interações planta-vírus, a família *Geminiviridae* constitui um grande e diverso grupo, capazes de infectar uma ampla gama de espécies, incluindo diversas culturas agronomicamente relevantes (Fauquet *et al.*, 2008). Embora aparentemente simples, esses patógenos subvertem eficientemente a célula hospedeira, criando um nicho para a propagação viral e desencadeando mudanças que refletem em todos os níveis, da expressão gênica até a organização celular (Lozano-Duran & Bejarano, 2011).

Um hub funcional e bem definido do sistema imune da plantas corresponde a interconexões convergentes para a proteína CNS5A que constitui a subunidade catalítica do complexo COP9 “signalosome”, um regulador chave de diversos processos celulares básicos. Consistente com a previsão de que efetores de diferentes patógenos devem alvejar similares conexões na rede de interações planta-patógeno, foi demonstrado independentemente que a proteína C2 de geminivírus interage com a proteína CNS5A (Lozano-Duran *et al.*, 2011). Além disso, foi também demonstrado que tanto a proteína NIG, quanto o receptor imune NIK, ambos alvos da proteína NSP de geminivírus, também interagem com CNS5A (Machado, 2011; Mukhtar *et al.*, 2011). Esta rede de interações, baseada em interações altamente interconectadas entre proteínas virais e proteínas do hospedeiro e que convergem em um alvo comum, sugere que a interconexão (hub) representada por CNS5A pode ser um elemento funcional na interação geminivírus-hospedeiro. Assim sendo, a caracterização dos componentes dessa rede de interações convergentes que ocorrem entre geminivírus e hospedeiro deve facilitar o nosso entendimento com relação a estratégia de virulência de geminivírus bem como mecanismos de defesa da planta para contrapor a infecção viral. Recentemente, foi identificado que, além de interagir com CNS5A, a proteína NIG também interage com uma proteína de função desconhecida codificada pelo locus AT2G41020, em leveduras (Machado, 2011). Como possível componente da rede de interações geminivírus-hospedeiro que converge em CNS5A, AT2G41020 pode interagir direta

ou indiretamente com fatores de virulência em resposta de defesa ou de compatibilidade. Sendo assim, os objetivos principais dessa investigação envolvem caracterização bioquímica da proteína codificada pelo locus AT2G41020 e identificação de possíveis interações com proteínas virais e fatores do hospedeiro. Análise *in silico* da estrutura predita da proteína codificada pelo locus AT2G41020, designada AtWWP1, revelou a presença de dois domínios WW e um domínio C-terminal altamente conservado entre proteínas homólogas de espécies vegetais e animais. Além disso, foi demonstrado que a proteína AtWWP1 é uma proteína nuclear capaz de formar corpos subnucleares via o domínio C-terminal conservado. Ensaios de co-immunoprecipitação e BiFC demonstraram que AtWWP1 interage *in vivo* com a proteína citoplasmática NIG promovendo o seu redirecionamento para corpos nucleares. Com a finalidade de explorar a atividade formadora de corpos nucleares de AtWWP1, a interação entre AtWWP1 e uma segunda proteína parceira AtMBD2 (proteína contendo um domínio de interação com CG metilado) foi caracterizada *in vivo*. Tanto a capacidade de formar corpos nucleares quanto a interação com AtMBD2 foram mapeadas em AtWWP1 e ocorrem via seu domínio C-terminal conservado, substanciando o argumento de que esta região de AtWWP1 é responsável pela formação de corpos subnucleares. Ensaios de co-localização demonstraram que os corpos nucleares contidos em AtWWP1 são distintos daqueles formados por proteínas envolvidas em *splicing* do RNA; porém co-localizam com corpos nucleares contendo CDK2. Além disso, foi demonstrado que AtWWP1 não liga a RNA, mas exibe uma atividade de ligação ao DNA. Estas características implicam que AtWWP1 deve estar envolvida com funções nucleares básicas. Como componente de um hub funcional na interação geminivírus-hospedeiro, torna-se relevante avaliar se a infecção viral perturbaria os corpos nucleares formados por AtWWP1.

Principais Referências:

- Dodds, P.N.; Rathjen, J.P. Plant immunity: towards an integrated view of plant–pathogen interactions. *Nature Reviews* **11**, 539-548 (2010).
- Mukhtar *et al.* Independently Evolved Virulence Effectors Converge onto Hubs in a Plant Immune System Network *Science* **333**, 596-601 (2011);
- Fauquet, *et al.* Geminivirus strain demarcation and nomenclature. *Archives of Virology* **153**, 783–821(2008);
- Lozano-Duran, R. & Bejarano, E. Geminivirus C2 protein might be the key player for geminiviral co-option of SCF-mediated ubiquitination. *Plant Signaling and Behavior* **6**, 999-1001 (2011);
- Lozano-Duran *et al.* Geminiviruses Subvert Ubiquitination by Altering CSN-Mediated Derubylation of SCF E3 Ligase Complexes and Inhibit Jasmonate Signaling in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell* **23**, 1014–1032 (2011).
- Machado, J.P., M.Sc., Universidade Federal de Viçosa Identificação e caracterização de alvos celulares da proteína NIG (*NSP-Interacting GTPase*). Orientadora: Elizabeth Pacheco Batista Fontes (2011).



Iara Pinheiro Calil
Prelecionista

Prof^a. Elizabeth Pacheco Batista Fontes
Orientadora