



B0421

ANÁLISE MUTACIONAL DO PROMOTOR DO GENE DA MIOSTATINA

Carolina Stefano Mantovani (Bolsista PIBIC/CNPq), Carla Vermeulen Carvalho Grade e Profa. Dra. Lúcia Elvira Álvares (Orientadora), Instituto de Biologia - IB, UNICAMP

A Miostatina é uma proteína que regula negativamente a formação de musculatura esquelética, e sua estrutura e função são conservadas em diversas espécies, incluindo humanos. Análises de bioinformática revelaram a presença de sítios conservados no promotor basal de seu gene, incluindo um TATA box e sítios de ligação para os fatores de transcrição NFY, CREB, Meis e FXR. A fim de analisar o papel destes fatores na modulação da atividade transcricional da Miostatina, tal promotor foi clonado no vetor pGL3-Basic, *upstream* ao gene repórter da luciferase. A partir desta construção de expressão inicial (pPMM) foram realizados *rounds* de mutagênese sítio-dirigida *in vitro* com o objetivo de criar uma variedade de construções contendo um ou mais sítios inativados (pPMM Δ 1 a pPMM Δ 11). A atividade de cada construção foi então testada durante a proliferação de mioblastos C2C12 *in vitro*. Os resultados indicam que NFY atua como um ativador do promotor da Miostatina, enquanto CREB e Meis atuam como repressores, e FXR parece não ter função no contexto da proliferação dos mioblastos. Mutações múltiplas geraram resultados mais complexos, indicando que também devem ocorrer interações sinérgicas e antagonísticas entre os fatores, o que mostra que a transcrição do gene da Miostatina é regulada por uma intrincada rede de sinalização.

Promotor gênico - Miostatina - Mutação sítio-dirigida