



Rua do Souto - 1750

X CONGRESSO NACIONAL DE BIOQUÍMICA

Universidade do Minho
BRAGA

31 de Outubro - 2 de Novembro 1996

Programa e Resumos



P6-13

IDENTIFICATION OF BONE GLA PROTEIN DURING EARLY DEVELOPMENT OF SOLEA SENEGALENSIS (KAUP, 1958)

P. J. Gavaia, M. Faustino, and M. L. Canceia
Universidade do Algarve, UCTRA, 8000 Faro, Portugal

With the objective of better understanding the calcification process in the Sole (*Solea senegalensis*), we have followed the appearance of cartilage and bone structures during the sole early developmental stages (from hatching till 51 days post-hatching-DPH) by a specific double labelling method (Alcian blue/Alizarin red). Bone structures were further identified by *in situ* hybridization using a specific riboprobe for Bone Gla Protein (BGP), a bone specific protein which in higher vertebrates is known to be a marker for bone formation. Early development of the sole embryo can be divided in three major phases: early larval (from eclosion to 10 DPH), metamorphosis (11 to 19 DPH) and post-larval (from 23 DPH on). Our results show that cartilage deposition can be visualized by 3 DPH, starting in the head region and extending to tail till 24 DPH. Calcification was first detected in the mouth and opercula regions, followed by the head plates and vertebral column. A fully ossified skeleton was apparent between 34 and 51 DPH. The localization of BGP mRNA by *in situ* hybridization mapped to the above described regions of calcification confirming that, in fish, BGP expression seems to be also restricted to the mineralized structures, mainly bone and scales, and therefore could be used as a marker for bone formation in lower vertebrates.

P6-15

IDENTIFICATION OF THE TARGET GENES FOR THE TRANSCRIPTION FACTORS, YAPIp AND YAP2p, IN SACCHAROMYCES CEREVISIAE

M. Escobar-Henriques^{1,2}, H. Dumond², L. Fernandes¹, M. Bolotin-Fukuhara² and C. Rodrigues-Pousada¹

¹ Laboratório de Genética Molecular, Instituto Gulbenkian de Ciência, Ap. 14, 2781 Oeiras

² Laboratoire de Génétique Moleculaire, Institut de Génétique et Microbiologie, Orsay

The transcription factors YAPIp and YAP2p belong to the class of bzip proteins. They contain a structural motif consisting of a leucine zipper domain adjacent to a basic region of aminoacids that interacts directly with DNA. They both display a pleiotropic resistance to drugs such as phenantroline, cadmium, and H₂O₂. While for YAPI protein, several target genes have been already reported namely the genes encoding the thioredoxin (*TRX1*), trehalose phosphate phosphatase (*TPS2*), and γ -glutamyl cysteine synthetase, the target genes for YAP2 are not yet known. Here we present the characterization of target genes for both YAPIp and YAP2p. For this purpose we have made use of a fusion library which contains yeast genomic fragments fused to a *LacZ* reporter gene. Several screenings have been made and some potential target genes for YAP2p and YAPIp were found. The expression of these genes isolated from the wild-type, the $\Delta yap1$, the $\Delta yap2$, and the $\Delta yap1 \Delta yap2$ strains growing in exponential phase and subjected to several stress conditions was analysed by RT-PCR. The results obtained have been confirmed by Northern blotting hybridization. Our results taken together will be discussed.

P6-14

EXPRESSION DOS GENES DA HORMONA DE CRESCIMENTO (GH) E DA PROLACTINA (PRL) EM ESTADOS INICIAIS DO DESENVOLVIMENTO DA DOURADA, SPARUS AURATA

P. M. Guerreiro e D. M. Power
Centro de Ciências do Mar, UCTRA, Universidade do Algarve

Estudos têm demonstrado a influência da GH e da PRL no início do desenvolvimento. Neste caso descreve-se a expressão da GH e da PRL na dourada em diferentes estados do desenvolvimento larvar. A partir de larvas amostradas diariamente até ao 11º dia extraiu-se RNA total e a Transcriptase Inversa foi utilizada na síntese de cDNA. A expressão de GH e PRL foi determinada por PCR, com *primers* construídos a partir da sequência destes genes nos adultos. A identidade dos produtos de PCR foi verificada através de sequenciação, seguindo-se uma análise pelo método de Southern blot utilizando sondas para GH e PRL marcadas radioactivamente com ³²P-dCTP. A hibridação com o DNA que codifica GH foi vista inicialmente a partir do dia 1 após a eclosão, apresentando um significativo aumento após o dia 5. Os níveis de expressão da PRL foram menores e surgiram no dia 2 aumentando ligeiramente até ao dia 11. A expressão da β -Actina, utilizada para a normalização dos resultados, foi elevada desde o dia 1 e constante nos 10 dias seguintes. Estes resultados sugerem que a pituitária, apesar de um estado de diferenciação pouco desenvolvido, é capaz de produzir mRNA para duas hormonas que têm no adulto origens distintas. Os níveis de GH apresentam uma apreciável taxa de transcrição. Interessante é também o facto de o aumento de mRNA para GH coincidir de certa forma com a transição para alimentação exógena.

P6-16

IDENTIFICAÇÃO E SEQUENCIAÇÃO DA REGIÃO DO DNA DO FAGO fOg44 DE OENOCOCCUS OENI CONTENDO att P

A. Isidro¹, C. São José^{1*}, R. Santos², G. Vieira^{1,2} e M. A. Santos^{1,3}

¹ Departamento de Biologia Vegetal, FCUL

² Centro de Genética e Biologia Molecular, UL

³ Instituto de Tecnologia Química e Biológica, UNL

*Bolseiro JNICT (FMRH/BIC/1485/95)

fOg44 é um fago temperado de *O. oeni*, originalmente isolado por indução da estirpe bOg44. Este e outros fagos da nossa colecção foram utilizados na construção de derivados lisogénicos da estirpe PSU-1, de forma a possibilitar o estudo das interações fago-hospedeiro num background isogénico. Experiências de hibridação do DNA fágico total ou de fragmentos de restrição definidos ao DNA clivado de lisogenes, permitiu circunscrever a região contendo *att P* a um fragmento *EcoRV* de fOg44, com 1,7 Kb. A sequenciação deste fragmento revela um elevado conteúdo de sequências ricas em AT e uma ocorrência importante de potenciais estruturas secundárias. Uma deleção identificada no mutante fOg44- $\Delta 2$, abrangendo ca. 2Kb de DNA, dispensável à sua propagação lítica, elimina um dos locais *EcoRV* que delimitam o fragmento referido. Embora observações iniciais indicassem que fOg44- $\Delta 2$ não possuía *att P* e/ou era defectivo para a integração, isolámos recentemente derivados da estirpe ML34-C10 contendo o respectivo profago (ML34-C10 e PSU-1 são indistinguíveis por análise de macrorestrição). Uma fracção significativa dos lisogenes assim obtidos caracteriza-se por um invulgar padrão de imunidade a outros fagos e pela total ausência de indução fágica, mesmo na presença de Mitomicina C. Estes resultados, que sugerem uma deficiência numa função essencial à excisão do profago, são apoiados pela ausência intracelular de formas lineares ou replicativas do DNA fágico - cuja detecção é habitual em outros lisogenes de fOg44- $\Delta 2$ ou do fago selvagem.