



## AValiação DA CURVATURA INTRínSECA DE REGIões MARs, DETECTADAS *IN SILICO*, PERTENCENTES À REGIÃO AMPLIFICADA DO GENE *BhC4-1*

Bruna Hayashi<sup>1</sup>, Márcia Marta Hoff<sup>1</sup>, Maria Aparecida Fernandez<sup>2</sup>, Adriana Fiorini<sup>3</sup>

**Resumo:** Domínios funcionais do DNA podem estar localizados em regiões denominadas alças ou loops, formados pela associação do DNA a uma estrutura nuclear protéica denominada matriz nuclear. Várias possíveis funções tem sido reportadas para as regiões de associação à matriz nuclear (MARs) como ativação da transcrição, replicação e reparo. MARs, ou seqüências adjacentes à essas regiões podem apresentar sítios intrínsecos de DNA *curvo*. Até agora não é conhecida nenhuma seqüência consenso que é característica de uma MAR, mas pesquisadores que identificaram fisicamente as MARs tentaram correlacionar sua presença com a ocorrência de vários motivos de seqüência, como DNA curvo. O objetivo deste trabalho é a análise do comportamento eletroforético de fragmentos de DNA à montante do gene *BhC4-1* de *Bradysia hygida* amplificados pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), relativos a regiões putativas de associação à matriz nuclear, detectadas *in silico*. Inicialmente a seqüência do fragmento de 3990 pb, contendo a região em análise, será analisada para a predição computacional de regiões de associação à matriz nuclear, pelo software MAR-Wiz, disponível gratuitamente no site <http://www.futuresoft.org/modules/MarFinder/index.html>. Os gráficos serão gerados em diferentes janelas de análise. Para a reação de PCR será utilizado como *template* o DNA recombinante contendo o inserto de 3990 pb clonado no plasmídeo pT7T3. O DNA recombinante será quantificado por espectrofotometria de luz U.V. e por eletroforese em gel de agarose a 0,7%, para determinar a concentração ótima para a reação da PCR. As temperaturas ótimas de anelamento dos primers serão definidas utilizando o software FAST PCR, disponível *online* em <http://www.biocenter.helsinki.fi/bi/Programs/fastpcr.htm>. Após a PCR, os *amplicons* serão analisados em géis de agarose a 1%, para a confirmação da positividade da reação. Para a análise do comportamento eletroforético, os *amplicons* serão analisados por eletroforese em géis de poliácridamida a 6%, a uma temperatura de 4°C. Para a confirmação da presença de curvatura intrínseca, estes fragmentos serão analisados por eletroforese em géis de poliácridamida a 6%, na presença de brometo de etídio, em temperatura ambiente. As seqüências dos fragmentos amplificados serão submetidas à modelagem 3D, utilizando o programa 3D15m1, para o estudo da curvatura. Com os resultados obtidos será possível fazer uma análise preliminar da presença de sítios intrínsecos de curvatura em regiões do DNA escolhidas para se avaliar experimentalmente o potencial de associação à matriz nuclear, em diferentes estádios do desenvolvimento larval de do sciarídeo *Bradysia hygida*, projeto em andamento por nosso grupo de pesquisa.

**PALAVRAS-CHAVE:** Região de Associação à Matriz Nuclear; DNA curvo; Gene *BhC4-1*.

<sup>1</sup>Acadêmicas do Curso Ciências Biológicas. Departamento de Ciências Biológicas do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, Maringá – PR. [brunahayashi@hotmail.com](mailto:brunahayashi@hotmail.com), [mm.hoff@uol.com.br](mailto:mm.hoff@uol.com.br).

<sup>2</sup>Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. da Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biologia Celular e Genética, UEM. [aparecidafernandez@gmail.com](mailto:aparecidafernandez@gmail.com).

<sup>3</sup>Docente do Cesumar. Departamento de Ciências Biológicas do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, Maringá – PR. [fiorini@cesumar.br](mailto:fiorini@cesumar.br)