

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE DOUTORADO**

**ESTUDO DAS PROTEÍNAS LIGANTES A ACIL-CoA EM *Jatropha curcas* L.: caracterização estrutural e funcional *in silico* e validação molecular por PCR**

**Francielly Carvalho de Oliveira**

**CRUZ DAS ALMAS - BA  
AGOSTO – 2025**

**ESTUDO DAS PROTEÍNAS LIGANTES A ACIL-CoA EM *Jatropha curcas* L.: caracterização estrutural e funcional *in silico* e validação molecular por PCR**

**Francielly Carvalho de Oliveira**

Bacharel em nutrição, Faculdades Integradas de Patos, 2017

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito para a obtenção do Título de Doutor em Ciências Agrárias (Área de Concentração: Agricultura Tropical).

**Orientadora:** Profa. Dra. Simone Alves Silva

**Coorientadores:** Dr. Ciro Ribeiro Filadelfo

Dr. Raner José Santana Silva

**CRUZ DAS ALMAS - BA**

**AGOSTO – 2025**

## FICHA CATALOGRÁFICA

O48e	<p>Oliveira, Francielly Carvalho de. Estudo das proteínas ligantes a acil-coa em <i>Jatropha curcas</i> L.: caracterização estrutural e funcional <i>in silico</i> e validação molecular por PCR / Francielly Carvalho de Oliveira._ Cruz das Almas, BA, 2025. 84f.: il.</p> <p>Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas, Doutorado em Ciências Agrárias.</p> <p>Orientadora: Prof. Dra. Simone Alves Silva. Coorientador: Prof. Dr. Ciro Ribeiro Filadelfo. Coorientador: Prof. Dr. Raner José Santana Silva.</p> <p>1.Pinhão-manso – Produtividade – Manejo. 2.Pinhão-manso – Melhoramento genético. 3.Proteínas – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p>CDD: 633.85</p>
------	--

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA CENTRO DE  
CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE DOUTORADO**

**ESTUDO DAS PROTEÍNAS LIGANTES A ACIL-CoA EM *Jatropha curcas* L.:  
caracterização estrutural e funcional *in silico* e validação molecular por PCR**

Comissão Examinadora da Defesa da Tese de  
Francielly Carvalho de Oliveira

Aprovada em 29 / 08 / 2025

Documento assinado digitalmente



**SIMONE ALVES SILVA**

Data: 29/10/2025 21:26:43-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Simone Alves Silva  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB  
Presidente da Banca

Documento assinado digitalmente



**CARLOS AUGUSTO DÓREA BRAGANÇA**

Data: 30/10/2025 11:03:07-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Carlos Augusto Dórea Bragança  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB  
Examinador Interno

Documento assinado digitalmente



**JACQUELINE ARAÚJO CASTRO**

Data: 29/10/2025 11:31:12-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Jacqueline Araújo Castro  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano – IF Baiano  
Examinadora Externa

Documento assinado digitalmente



**MONALIZA MACEDO FERREIRA**

Data: 29/10/2025 13:46:05-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Monaliza Macedo Ferreira  
Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC  
Examinadora Externa

Documento assinado digitalmente



**RICARDO FRANCO CUNHA MOREIRA**

Data: 29/10/2025 21:52:21-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Ricardo Franco Cunha Moreira  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB  
Examinador Externo

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, fonte de toda sabedoria, força e esperança. Sem Sua graça e direção, nada disso teria sido possível. Foi Ele quem sustentou meus passos, iluminou meu caminho e renovou minhas forças nos momentos de cansaço e dúvidas. Confio na promessa de que *“posso todas as coisas Naquele que me fortalece”* (Filipenses 4:13), e essa certeza me acompanhou até aqui, me motivando a perseverar e conquistar esta vitória.

À minha orientadora, Profa. Dra. Simone Alves Silva, pela orientação dedicada, pela confiança depositada em meu trabalho, e por seu exemplo de profissionalismo, ética e compromisso com a ciência.

Aos meus coorientadores, Prof. Dr. Ciro Ribeiro Filadelfo e Prof. Dr. Raner José Santana Silva, pelas contribuições valiosas, pelas sugestões sempre pertinentes e pelo suporte contínuo durante o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), pela formação acadêmica sólida e pela oportunidade de crescimento profissional.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pelo apoio financeiro por meio da concessão de bolsa, fundamental para a execução deste trabalho.

Ao Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO), pelo suporte técnico, infraestrutura e ambiente colaborativo, essenciais para o desenvolvimento desta pesquisa. Agradeço especialmente às técnicas Rafaela Moreira e Rosenir Silva, pela competência, disponibilidade e ajuda generosa em todas as etapas do trabalho laboratorial.

Aos colegas e amigos que fizeram parte dessa caminhada, pelas trocas de conhecimento, pela parceria nos desafios do dia a dia, e pelos momentos de amizade que tornaram essa experiência mais leve e significativa. Em especial, à Ilneide Braz, pela amizade, apoio constante e companheirismo ao longo de toda a trajetória no laboratório e fora dele.

À minha família, Rosifrança de Carvalho, Francisco Gabriel e Francélia Carvalho, minha base e meu alicerce. Peço desculpas por estar tão longe de casa, mas saibam que, mesmo à distância, vocês continuam sendo o meu porto seguro. A presença de vocês em minha vida é insubstituível, e sou imensamente grata por todo amor, oração, apoio e encorajamento ao longo deste percurso.

Aos amigos e à família Brilho Celeste, minha profunda gratidão pelo acolhimento, carinho e pela presença constante que trouxe consolo e alegria ao meu coração durante esta caminhada. Aos líderes Diego, Carine e Pamela, meu sincero agradecimento pelo cuidado espiritual, pelas palavras firmes e cheias de fé, pelas orações e pelo exemplo de dedicação e amor ao próximo, vocês foram suporte e direção em momentos essenciais. Aos meus amigos, Ariane, Maria Fernanda, Alanda, Roniere, Raniel, Samuel e Eric, obrigada por cada risada compartilhada, por cada gesto de cuidado, por me estenderem a mão nos dias difíceis e por se tornarem minha família longe de casa. O carinho, a leveza e o amor que vocês derramaram sobre mim foram verdadeiras respostas de oração. Como diz a Palavra: *“Em todo tempo ama o amigo, e na angústia nasce o irmão”* (Provérbios 17:17). Vocês foram exatamente isso para mim, e que Deus retribua cem vezes mais tudo o que me ofereceram com tanta generosidade e afeto.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta tese, meu muito obrigada.

## **EPIGRAFE**

“Confia no Senhor de todo o teu coração, e não te estribes no teu próprio entendimento. Reconhece-o em todos os teus caminhos, e ele endireitará as tuas veredas.” (Provérbios 3:4-5 ARC)

# **ESTUDO DAS PROTEÍNAS LIGANTES A ACIL-CoA EM *Jatropha curcas* L.: caracterização estrutural e funcional *in silico* e validação molecular por PCR**

## **RESUMO**

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) é uma oleaginosa de interesse para produção de biodiesel, embora desafios de manejo e produtividade limitem o avanço do melhoramento genético. Estudos voltados à identificação de genes associados ao metabolismo lipídico, utilizando ferramentas de bioinformática, podem ampliar o conhecimento sobre os mecanismos moleculares relacionados à síntese e ao transporte de lipídios. Entre as proteínas envolvidas no metabolismo lipídico, as acyl-CoA-binding proteins (ACBPs) destacam-se por seu papel na síntese, transporte e armazenamento de lipídios, sendo alvos relevantes para investigações funcionais em *J. curcas*. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo caracterizar *in silico* os genes e proteínas da família ACBP em *J. curcas*, desenhar e validar primers específicos, analisar a presença gênica em diferentes genótipos e realizar análises estruturais e funcionais das proteínas, por meio de ferramentas computacionais. A identificação dos genes ACBPs foi realizada a partir do genoma de referência disponível no NCBI, com análises de domínios, elementos cis-regulatórios e expressão *in silico* a partir de dados de RNA-Seq. Primers foram desenhados e testados por PCR, enquanto as proteínas foram caracterizadas quanto a propriedades físico-químicas, modelagem por homologia, ancoragem molecular com acil-CoAs e análise de interações proteína-proteína. Quatro genes da família ACBP foram identificados no genoma de *J. curcas* (classes I, III e IV), com tamanho variando entre 1.975 e 8.449 pb. A análise das regiões promotoras revelou elementos cis-regulatórios relacionados à resposta a estímulos ambientais e hormonais, enquanto dados de RNA-Seq indicaram expressão desses genes em diversos tecidos, com destaque para JcACBP1. A amplificação por PCR convencional confirmou a presença de JcACBP1, JcACBP3 e JcACBP4 na maioria dos genótipos, exceto UFRB5 e UFRB14, que apresentaram os maiores teores de óleo. As análises estruturais e de modificações pós-traducionais das proteínas reforçam a função multifuncional das JcACBPs no metabolismo lipídico. A JcACBP1 apresentou interações estáveis com diferentes acil-CoAs, especialmente palmitoil-CoA, evidenciando sua versatilidade no transporte desses metabólitos. Além disso, as redes de interação proteína-proteína preditas sugerem envolvimento dessas proteínas na  $\beta$ -oxidação peroxissomal e em outras vias do metabolismo lipídico. Os resultados indicam que as JcACBPs estão envolvidas em processos relacionados ao metabolismo lipídico e possivelmente na adaptação fisiológica de *J. curcas*. A presença diferencial de algumas isoformas entre genótipos, aliada às predições estruturais, de interações proteína-proteína e de ligação a acil-CoAs, sugere funções multifuncionais dessas proteínas. Esses achados fornecem uma base sólida para estudos futuros que explorem os mecanismos moleculares das JcACBPs e seu papel na fisiologia e no metabolismo da planta.

**Palavras-chave:** ACBP, Bioinformática, Desenho de primers, Pinhão manso, Metabolismo lipídico.

# STUDY OF ACYL-COA-BINDING PROTEINS IN *Jatropha curcas* L.: In Silico Structural and Functional Characterization and Molecular Validation by PCR

## ABSTRACT

Physic nut (*Jatropha curcas* L.) is an oilseed crop of interest for biodiesel production, although agronomic and productivity challenges limit the progress of genetic improvement. Studies focused on the identification of genes involved in lipid metabolism, using bioinformatics tools, can enhance our understanding of the molecular mechanisms regulating lipid synthesis and transport. Among proteins associated with lipid metabolism, acyl-CoA-binding proteins (ACBPs) play key roles in lipid synthesis, transport, and storage, making them relevant targets for functional investigations in *J. curcas*. This study aimed to perform an in silico characterization of ACBP genes and proteins in *J. curcas*, design and validate specific primers, analyze gene presence across different genotypes, and carry out structural and functional analyses of the proteins using computational tools. ACBP genes were identified from the reference genome available at NCBI, with analyses of domains, cis-regulatory elements, and in silico expression based on RNA-Seq data. Primers were designed and tested by conventional PCR, while proteins were characterized regarding physicochemical properties, homology modeling, molecular docking with physiological acyl-CoAs, and protein–protein interaction analyses. Four ACBP genes were identified in the *J. curcas* genome (classes I, III, and IV), with sizes ranging from 1,975 to 8,449 bp. Promoter analyses revealed cis-regulatory elements related to responses to environmental and hormonal stimuli, and RNA-Seq data indicated gene expression across various tissues, particularly for JcACBP1. PCR amplification confirmed the presence of JcACBP1, JcACBP3, and JcACBP4 in most genotypes, except UFRB5 and UFRB14, which displayed the highest seed oil content. Structural analyses and predictions of post-translational modifications support the multifunctional role of JcACBPs in lipid metabolism. JcACBP1 showed stable interactions with different acyl-CoAs, especially palmitoyl-CoA, highlighting its versatility in acyl-CoA transport. Predicted protein–protein interaction networks suggest involvement of these proteins in peroxisomal  $\beta$ -oxidation and other lipid metabolic pathways. Overall, the results indicate that JcACBPs participate in lipid-related processes and potentially in the physiological adaptation of *J. curcas*. The differential presence of isoforms among genotypes, combined with structural predictions, protein–protein interactions, and acyl-CoA binding, suggests multifunctional roles for these proteins. These findings provide a solid foundation for future studies exploring the molecular mechanisms of JcACBPs and their roles in plant physiology and lipid metabolism.

**Keywords:** ACBP, Bioinformatics, Primer Design, Physic Nut, Lipid Metabolism.

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** – Volume dos componentes das reações, temperatura de anelamento e tempo de extensões utilizadas na validação dos pares de primers, para os clones de pinhão manso. Quantidade dos reagentes por reação em microlitros.....15

**Tabela 2** – Características dos genes *JcACBPs* presentes no genoma de *Jatropha curcas* L, segundo o genoma RJC1\_Hi-C presente no NCBI. ACBP: Acyl CoA binding protein (Proteínas ligantes de acil-CoA); NCBI: National Center for Biotechnology Information (Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia).....19

**Tabela 3** – Sequências e parâmetros físico-químicos dos primers específicos para genes ACBP de *J. curcas*. F: forward; R: reverse; TM: temperatura de Melting; GC %: porcentagem de Guanina e Citosina; bp: pares de base.....25

**Tabela 4** – Desempenho dos clones (CLN) em relação ao teor de óleo do albúmen (TOA) em *J. curcas* aos 42 meses após o plantio.....28

**Tabela 5** – Características físico-químicas das proteínas *JcACBPs*. ID: número de acesso NCBI. pI: ponto Isoelétrico; GRAVY: índice de hidropaticidade.....31

**Tabela 6** – Parâmetros e avaliações dos modelos tridimensionais das proteínas *JcACBP1*, *JcACBP2*, *JcACBP3* e *JcACBP4* obtidos pelo Swiss-Model.....36

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Representação esquemática dos domínios conservados nas proteínas JcACBP1, JcACBP2, JcACBP3 e JcACBP4 de *J. curcas*, gerada com o servidor MyDomains: Image creator (Prosite). A escala indica a posição dos resíduos ao longo da cadeia polipeptídica.....20
- Figura 2** – Estrutura gênica das *JcACBPs*. Éxons: estrutura amarela. Íntrons: em linhas. Os desenhos das estruturas foram obtidos pelo GSDS 2.0: *Gene Structure Display Server*. ACBP: Acyl CoA binding protein (Proteínas ligantes de acil-CoA).....21
- Figura 3** – Elementos cis presentes nas regiões promotoras dos genes *JcACBPs*.....22
- Figura 4** – Gráfico de calor de expressão gênica das *JcACBPs* em diferentes tecidos. Azul: menor expressão, Amarelo: média, Vermelho: maior expressão.....24
- Figura 5** – Perfil de bandas dos produtos de PCR convencional obtidos com os primers específicos para os genes *JcACBP1*, *JcACBP3* e *JcACBP4* em genótipos de *J. curcas*. As bandas correspondem aos amplicons esperados para cada marcador. L: DNA Ladder (Invitrogen™ 100 bp).....28
- Figura 6** – Presença de regiões transmembrana nas *JcACBPs*. Picos na cor violeta indicam a presença de domínios transmembrana.....32
- Figura 7** – Sítios de fosforilação e glicosilação em *JcACBPs*. S: serina; T: treonina; Y: tirosina; N: asparagina.....33
- Figura 8** – Estruturas secundárias e regiões de desordem nas *JcACBPs*. Helix:  $\alpha$ -hélices; Strand: folhas  $\beta$ -pregueadas; Coil: zonas desordenadas.....35
- Figura 9** – Estruturas tridimensionais das proteínas *JcACBPs* modeladas por homologia no Swiss Model. a) *JcACBP1* (classe 1) ; b) *JcACBP2* (classe 2); c) *JcACBP3* (classe 4); d) *JcACBP4* (classe 4).....37
- Figura 10** – Representações das interações moleculares, bi e tridimensional, entre a proteína *JcACBP1* de *J. curcas* com seus ligantes: Palmitoil-CoA (A e B), Oleoil-CoA (C e D) e Stearoil-CoA (E e F).....39
- Figura 11** – Redes de interação proteína-proteína (PPI) preditas para as proteínas *JcACBPs* de *Jatropha curcas*, obtidas por meio da plataforma STRING. a) *JcACBP1*; b) *JcACBP2*; c) *JcACBP3*; d) *JcACBP4*.....41
- Figura 12** – Processos biológicos significativamente enriquecidos nas redes de interação proteína-proteína (PPI) preditas para as proteínas *JcACBPs* de *J. curcas*, identificados pela plataforma STRING. Os processos indicam a participação das *JcACBPs* em vias metabólicas relacionadas ao metabolismo lipídico, beta-oxidação

de ácidos graxos, transporte intracelular e organização estrutural celular. a) JcACBP1; b) JcACBP2; c) JcACBP3; d) JcACBP4.....42

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
2.1. Pinhão manso.....	3
2.2. Conservação e Melhoramento Genético.....	4
2.3. Metabolismo lipídico.....	6
2.4. ACBPs - proteínas ligantes a Acil-CoA.....	7
2.5. Caracterização <i>in silico</i> .....	9
2.6. Análises de Expressão.....	10
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>26</b>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>31</b>
<b>6. REFERENCIAS.....</b>	<b>32</b>
<b>CAPÍTULO 2 – CARACTERIZAÇÃO <i>IN SILICO</i> E <i>IN VITRO</i> DA FAMÍLIA DE PROTEÍNAS ACBP EM PINHÃO MANSO: ESTRUTURA, EXPRESSÃO E IMPLICAÇÕES NO ACÚMULO LIPÍDICO.....</b>	<b>35</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>36</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>37</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>38</b>
<b>2. METODOLOGIA.....</b>	<b>39</b>
2.1. Identificação e Análise Estrutural dos Genes.....	39
2.2. Análises de Expressão Gênica <i>In Silico</i> .....	40
2.3. Amplificação e Detecção de Genes por PCR Convencional.....	40
2.4. Caracterização Química e Funcional das Proteínas.....	42
2.5. Modelagem por homologia e Ancoragem molecular.....	42
2.6. Predição de Interações Proteína-Proteína.....	43
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>44</b>
<b>4 CONCLUSÃO.....</b>	<b>68</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>69</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>75</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie oleaginosa, pertencente à família *Euphorbiaceae*, apresentando óleo de boa qualidade e menor custo de processamento, com ampla adaptação a condições de clima tropical e subtropical (Abdelgadir & Van Staden, 2013; Laviola et al., 2014).

O elevado potencial do pinhão manso deve-se, em grande parte, à sua composição lipídica, caracterizada por altos teores de ácidos graxos mono e di-insaturados e por uma fração oleosa que varia entre 32% e 40%, podendo atingir até 56,8% em alguns genótipos (Achten et al., 2007; Abobatta, 2019; Bonilla et al., 2019). Essa característica não apenas o torna uma fonte promissora para a produção de biocombustíveis, mas também um modelo interessante para o estudo dos mecanismos de biossíntese e acúmulo de lipídios em plantas (Riayatsyah et al., 2022; Agrawal et al., 2023).

Dentre as proteínas associadas ao metabolismo lipídico, destacam-se as *acyl-CoA-binding proteins* (ACBPs), uma família conservada de proteínas que participam do transporte de acil-CoAs e da regulação de diferentes vias metabólicas. Evidências indicam que essas proteínas modulam a biossíntese de lipídios e moléculas sinalizadoras por meio da interação com enzimas-chave e do controle espaço-temporal da expressão gênica (Lung & Chye, 2019; Raboanatahiry et al., 2018).

As ACBPs em plantas são classificadas em quatro grupos, definidos com base no peso molecular e na presença de domínios adicionais. A Classe I compreende proteínas de baixo peso molecular que contêm apenas o domínio conservado ACBP. As Classes II e IV incluem proteínas de pesos moleculares intermediários a altos, contendo, além do domínio ACBP, motivos funcionais adicionais, como domínios de anquirina (Classe II) e motivos kelch (Classe IV), ambos associados à interação proteína-proteína e à regulação de vias de sinalização. A Classe III, por sua vez, abrange proteínas de maior peso molecular, com regiões C-terminais estendidas e outros domínios acessórios, geralmente envolvidas no transporte lipídico intracelular e na manutenção da homeostase (Du et al., 2016; Lung & Chye, 2019).

A diversidade funcional das ACBPs tem sido relatada em diversas espécies. Em *Brassica napus*, análises transcriptômicas revelaram perfis de expressão distintos entre embrião e tegumento durante a maturação das sementes, associando essas proteínas à regulação do metabolismo lipídico e ao acúmulo de reservas (Liao et al., 2019). Resultados semelhantes foram obtidos em *Elaeis guineensis*

(dendezeiro), onde a expressão de ACBPs é intensificada durante as fases de deposição de óleo, indicando sua atuação no transporte e na regulação de lipídios em oleaginosas tropicais (Amiruddin et al., 2017). Estudos adicionais em *Hevea brasiliensis* e em organismos não vegetais, como *Aspergillus oryzae*, reforçam a conservação evolutiva e a versatilidade funcional dessa família proteica (Nie et al., 2018; Yao et al., 2016).

Diante da relevância agronômica e bioenergética do pinhão manso, pesquisas voltadas à caracterização e ao desenvolvimento de ferramentas moleculares para o estudo de proteínas envolvidas no metabolismo lipídico podem contribuir significativamente para a compreensão de seus padrões de expressão em diferentes tecidos e condições ambientais, além de subsidiar estratégias de melhoramento genético (Haslam et al., 2020; Kim et al., 2020; Arockiasamy, 2021).

Abordagens *in silico*, baseadas em dados de sequenciamento e expressão gênica disponíveis em bancos especializados, têm se mostrado fundamentais nesse contexto. O uso de ferramentas de bioinformática possibilita a caracterização estrutural e funcional de proteínas de forma rápida e de baixo custo, permitindo a identificação de domínios conservados, a predição de estabilidade, o mapeamento de sítios de ligação e o embasamento de experimentos em biologia molecular, como o desenho de *primers* e a análise de expressão gênica (Bhat et al., 2022).

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo caracterizar, por meio de análises *in silico*, os membros da família de proteínas ligantes de acil-CoA (ACBPs) em *J. curcas*, realizar o desenho e validação de primers específicos, avaliar a presença gênica e correlacionar os dados com o teor de óleo das sementes, e, por último, caracterizar estrutural e funcionalmente as proteínas, incluindo modelagem estrutural, ancoragem molecular e análise de interação proteína-proteína, visando compreender seu papel no metabolismo lipídico e fornecer subsídios para o conhecimento funcional dessas proteínas, para estudos futuros e para estratégias de melhoramento genético, contribuindo para a produção sustentável de óleo em *J. curcas*.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)

O pinhão manso (*J. curcas*), também conhecido como pinha-de-purga, purgueira ou grão-de-maluco, é uma oleaginosa pertencente à família Euphorbiaceae (Arruda et al., 2004; Abdelgadir & Van Staden, 2013). A planta é originária do México e América Central, introduzida em regiões da África (como Cabo Verde, Guiné-Bissau, Moçambique e Angola) por navegadores portugueses e, posteriormente, em países da Ásia como Índia, China e Indonésia (Achten et al., 2010; Silitonga et al., 2011).

Apresenta boa adaptação a regiões tropicais, tolerância a solos pobres e à seca, ciclo vegetativo perene e início precoce de produção, com frutificação ocorrendo cerca de oito meses após o plantio (Laviola et al., 2014, 2019). Essa espécie se destaca entre as fontes alternativas renováveis para a produção de biocombustíveis no Brasil, especialmente em razão da composição adequada e alta fluidez do seu óleo (Martins et al., 2008; Durães et al., 2011; Wani et al., 2012; Laviola et al., 2014).

Por não ser comestível, o cultivo do pinhão manso não compete com culturas alimentares, configurando-se como uma alternativa sustentável para o uso de terras marginais e de baixa aptidão agrícola. A utilização de seu óleo contribui ainda para a mitigação das emissões de gases de efeito estufa, já que a planta absorve dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) durante seu ciclo de crescimento, colaborando com o balanço de carbono atmosférico (Chauhan et al., 2010; Riayatsyah et al., 2022; Agrawal et al., 2023).

O teor de óleo nas sementes pode variar de 30% a 40% do peso total, com predominância de ácido linoleico (29,0–44,2%), seguido pelos ácidos palmítico (14,1–15,3%) e esteárico (3,7–9,8%), o que confere propriedades físico-químicas favoráveis para a produção de biodiesel (Durães et al., 2011; Wani et al., 2012; Laviola et al., 2014; Mastan et al., 2019).

Além do uso energético, a espécie apresenta outras aplicações: na medicina popular de diversos países, é utilizada no tratamento de paralisia, reumatismo, gota e infecções de pele; na indústria, serve como matéria-prima para a fabricação de tintas e sabões; e na agricultura, é utilizada como cerca-viva, na recuperação de

áreas degradadas e em processos de biorremediação (Krishnan & Paramathma, 2009; Durães et al., 2009; Laviola et al., 2014).

Diante da versatilidade comercial e industrial do pinhão manso, o sequenciamento desta espécie foi alvo de estudos voltados para o melhoramento genético e conservação. O resultado disso está disponível em bancos especializados como o KAZUSA ([https://www.kazusa.or.jp/jatropha\\_3.0/](https://www.kazusa.or.jp/jatropha_3.0/)) (Sato et al., 2011), JCDB (<http://jcdb.xtbq.ac.cn/>) (Zhang et al., 2021) e também no NCBI ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). Trata-se de um genoma relativamente compacto, com tamanho estimado em 320,5 Mb. A espécie é diplóide ( $2n = 22$ ), possui cromossomos pequenos (1,24 a 1,71  $\mu\text{m}$ ), sendo cinco metacêntricos e seis submetacêntricos. A composição genômica é predominantemente rica em adenina e timina (61,3% AT e 38,7% GC) (Soontornchainaksaeng & Jenjittikul, 2003; Paramathma & Venkatachalam, 2007; Carvalho et al., 2008; Wu et al., 2015).

Essas características agronômicas, industriais e genômicas tornam o pinhão manso uma espécie de elevado interesse para pesquisas voltadas à conservação e ao melhoramento genético, uma vez que o conhecimento sobre seu genoma e variabilidade é fundamental para o desenvolvimento de cultivares mais produtivas e adaptadas a diferentes condições ambientais.

## 2.2 Conservação e Melhoramento Genético

Com o aumento do interesse na produção de *Jatropha curcas* e a constatação de limitações agronômicas e produtivas da espécie, surgiram os primeiros esforços voltados ao seu melhoramento genético. Atualmente, o pinhão manso é cultivado em diversos países, como Índia, China e Filipinas, e figura entre as principais fontes potenciais para a produção de biodiesel (Zhang et al., 2011; Changmai et al., 2020; Neupane et al., 2021; Ruatpuia et al., 2024). Diversas nações utilizam a espécie como matéria-prima na indústria de biocombustíveis, incluindo Índia, Peru, China, Indonésia, Filipinas, Paquistão, Tailândia, Irã, Cuba, Austrália, Zimbábue e Mali (Changmai et al., 2020).

O estudo de Ewunie et al. (2021) destaca os principais fatores que afetam o potencial da *J. curcas* para a produção sustentável de biodiesel, entre eles estão o baixo desempenho agronômico, a dependência de condições edafoclimáticas favoráveis, a variabilidade na qualidade do óleo e a escassez de tecnologias adequadas para coleta, extração e processamento. Além disso, fatores

socioeconômicos, como ausência de políticas públicas claras, incentivos governamentais insuficientes e problemas de propriedade fundiária, também contribuíram para o encerramento de projetos e a estagnação da cultura como fonte principal de biodiesel.

No México, que é um dos centros de pesquisa com a cultura, foram registradas três variedades de *J. curcas*, sendo duas com flores 100% femininas, que receberam os nomes de “Gran Victoria” e “Dona Aurelia” e uma variedade com maior proporção de flores masculinas foi registrada como “Don Rafael”, usada como polinizadora para as variedades femininas. O teor de óleo das variedades mexicanas varia de 48,3% a 56,8% (Bonilla et al., 2019).

Na África, o cultivo e os estudos com pinhão manso destinados para a produção do biocombustível teve uma baixa. Os estudos com a cultura na região voltaram-se para os genótipos que produzem sementes sem ésteres de forbol (não tóxico) para a alimentação animal e produção de alimentos e algumas variedades híbridas adaptadas a diferentes climas estão disponíveis (Martin et al., 2019).

O melhoramento genético da *J. curcas* tem recebido atenção crescente devido ao seu potencial como cultura energética sustentável. De acordo com Arockiasamy (2021), esforços biotecnológicos, como a aplicação de marcadores moleculares, edição genética e cultura de tecidos, têm sido fundamentais para superar desafios relacionados à baixa germinação, variabilidade genética limitada e adaptação a diferentes condições ambientais. A seleção assistida por marcadores (MAS) tem possibilitado avanços significativos na melhoria do teor e qualidade do óleo, características essenciais para a viabilidade econômica da cultura. Complementarmente, ferramentas “-ômicas” e análises *in silico* permitem a identificação precisa de genes e proteínas envolvidos no metabolismo lipídico e respostas ao estresse, facilitando o desenvolvimento de cultivares superiores (Upadhyay et al., 2025).

No Brasil, a autorização para inscrição da espécie no Registro Nacional de Cultivares (RNC) só aconteceu em 2008, por meio da normativa nº 4, de 14 de janeiro do corrente ano, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Brasil, 2008).

Os bancos ativos de germoplasma de pinhão manso no país estão situados na Embrapa Algodão, Embrapa Rondônia, Embrapa Agroenergia e Embrapa Cerrado, o BAG do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa,

ambos com diversos genótipos com ampla variabilidade, provenientes de diversas regiões do Brasil e de outros países (Spinelli et al., 2010; Freitas, et al., 2011; Laviola et al., 2012; Laviola, et al., 2017).

O progresso e processo de domesticação da cultura no Brasil ainda está em desenvolvimento. Como mencionado acima, além das dificuldades encontradas no desnível de maturação dos frutos, o que gera problemas na colheita e custos maiores de produção, o surgimento de moléstias causadas por fungos, como a antracnose e podridão do colo, tem dificultado esse processo de melhoramento e indicação de cultivares (Laviola, 2014; Montes & Melchinger, 2016).

Os estudos com esta oleaginosa no Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO), da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), teve início já no ano de 2008, com acessos trazidos da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA), das cidades de Alagoinhas e Irará, e acessos provenientes de intercâmbio com a Universidade Federal de Viçosa (UFV) de diferentes regiões da Bahia. Com um tamanho efetivo de população inicial de ~229, sofrendo uma redução para ~200 após a propagação e introdução no BAG da UFRB, os primeiros estudos já demonstraram a presença de divergência e variabilidade entre os acessos de meio-irmãos (Carvalho, 2010; Brasileiro et al., 2013; Pestana-Caldas et al., 2016).

As progênies de meio-irmãos que apresentaram maior variabilidade genética e divergência foram: UFRB-PM 1, UFRB-PM 6, UFRB-PM 9, UFRB-PM 12, UFRB-PM 13, UFRB-PM 19, UFRB-PM 11 e UFRB-PM 8, em um estudo com 20 progênies de meio-irmãos, utilizando marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), podendo ser indicadas para combinações híbridas e usadas como parentais em programas de melhoramento da espécie (Queiroz, 2015). Almeida et al. (2016), identificaram que os clones UFRBPR14 e UFRBPR15 como os mais divergentes, por meio da caracterização morfológica para seleção de variedades clonais, onde o número de ramos, a altura das plantas e o número de cachos foram as características que mais contribuiriam para essa divergência.

Farias (2018) indicou que os caracteres de produção de frutos (número de frutos) e óleo (produtividade de óleo) são os responsáveis pela detecção de variabilidade genética entre os clones, e deu destaque para os clones de meio-irmãos UFRB05, UFRB13, UFRB14.

Novos estudos e projetos estão sendo desenvolvidos pelo grupo de pesquisa NBIO da UFRB para o melhoramento dessa cultura, visando a maior produção de frutos com maior teor de óleo (por exemplo, voltados para o metabolismo lipídico) sua característica de maior interesse agrônômico e mercadológico.

### **2.3 Metabolismo lipídico**

Alguns estudos em espécies oleaginosas, como soja (*Glycine max* (L.) Merr. e mamona (*Ricinus communis* L.), indicam que o metabolismo lipídico é regulado por um conjunto de proteínas específicas envolvidas em diversas etapas das vias biossintéticas e de armazenamento. Nessas espécies, foram observadas variações significativas na atividade de enzimas relacionadas à biossíntese de ácidos graxos (Yousafi et al., 2019).

Em *J. curcas*, no entanto, as informações sobre tais proteínas ainda são escassas. Estudos como os de Yeboah et al. (2015) e Wu et al. (2013) demonstraram a atuação de algumas enzimas no acúmulo de lipídios durante o desenvolvimento das sementes, além da modulação do perfil de ácidos graxos no óleo. Apesar da relevância desses trabalhos, há necessidade de aprofundar o conhecimento sobre os perfis gênico e proteico associados à biossíntese lipídica na espécie, com vistas à sua aplicação em programas de melhoramento genético e abordagens biotecnológicas.

O estudo de Zhang et al., (2021) realizou uma mineração dentro do genoma da cultura a fim de identificar os genes relacionados a biossíntese do óleo, integrando dados de transcriptoma e interactoma por homologia. Usando como modelo a *Arabidopsis thaliana* L., foram encontrados um total de 27 candidatos a genes relacionados a biossíntese do óleo em *J. curcas*. Dentre estes, genes pertencentes à família das proteínas ligantes a Acil-CoA (ACBPs – *Acyl-CoA binding proteins*).

### **2.4 ACBPs - proteínas ligantes a Acil-CoA**

Em plantas, as proteínas ligantes de acil-CoA (ACBPs) são fundamentais para o metabolismo lipídico, atuando no transporte e na estabilização de ésteres de acil-CoA de cadeia longa. Elas garantem a disponibilidade desses intermediários para enzimas responsáveis pela biossíntese de lipídios complexos, como fosfolipídios e triacilgliceróis, e regulam a atividade dessas enzimas. Além disso, as ACBPs contribuem para o desenvolvimento vegetal e a resposta a estresses ambientais por

meio da modulação do metabolismo lipídico e da sinalização celular (Narayanan, et al., 2020; Guo et al., 2021; Lai e Chye, 2021).

Além desses processos biológicos, as ACBPs também atuam na  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos, que ocorre predominantemente nos peroxissomos e mitocôndrias e envolve coenzimas essenciais como a coenzima A (CoA), flavina adenina dinucleotídeo (FAD) e nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD<sup>+</sup>). Nessas condições, as ACBPs se ligam especificamente e com alta afinidade a intermediários como oleoil-CoA, palmitoil-CoA e estearoil-CoA, desempenhando papel crucial no transporte, compartimentalização e estabilização desses tioésteres, garantindo assim a manutenção da homeostase lipídica celular (Xiao & Chye, 2009; Aznar-Moreno et al., 2016; Raboanatahiry et al., 2018; Lai & Chye, 2021).

Estudos com *A. thaliana*, planta modelo, permitiu o enriquecimento do entendimento dessa família de proteínas e classifica as ACBP em quatro classes, separadas de acordo com sua estrutura, sua afinidade vinculante, sua localização subcelular, sua expressão e sua função (Du & Chye, 2013).

As ACBPs da classe 1 são as menores, constituídos por apenas um domínio ACBP, com aproximadamente 92 aminoácidos e peso molecular de 10 kDa, localizados no citosol, foram as primeiras ACBPs relatados em eucariotos e procariotos, são proteínas altamente conservadas e prevalentes em eucariotos (Burton et al., 2005; Chen, et al., 2008; Du et al., 2016; Raboanatahiry, et al., 2018).

A Classe 2 das ACBPs é composta por proteínas que possui em sua estrutura o domínio de ligação ao acil-CoA, domínio associado à membrana n-terminal e um domínio *Ankyrin repeat* (repetição de anquirina), possuem entre 338 a 354 aminoácidos, com peso molecular entre 37,5 kDa a 38,5 kDa. O domínio associado à membrana n-terminal direciona as proteínas ao Retículo Endoplasmático (RE) e à membrana plasmática, podem ser expressas em todos os tecidos vegetais. O domínio *ankyrin repeat* pode estar envolvido no metabolismo lipídico e na resposta ao estresse vegetal (Li & Chye, 2003; Xiao & Chye, 2009; Raboanatahiry, et al., 2018).

As proteínas da classe 3 correspondem às grandes ACBPs, formadas por aproximadamente 362 aminoácidos e com peso molecular em torno de 39,3 kDa. Assim como outras classes, elas possuem um domínio transmembrana. Em *Arabidopsis thaliana*, o membro representativo dessa classe, AtACBP3, tem sido associado a diversas funções biológicas, incluindo sinalização de defesa vegetal,

regulação circadiana e resposta à hipóxia. Além disso, essa proteína é considerada essencial para a manutenção dos níveis lipídicos normais, influenciando o teor de ácidos graxos quando ocorre sua redução (Xiao et al., 2010; Xie et al., 2015; Raboanatahiry et al., 2018; Hu et al., 2018).

As ACBPs pertencentes a classe 4 são caracterizadas pela presença de motivos kelch além do seu domínio de ligação acil-CoA, possuem entre 648 – 668 aminoácidos, com peso molecular entre aproximadamente 72 kDa, são proteínas encontradas no citosol, expressa em diferentes tecidos, com destaque para raízes, brotos jovens e folhas adultas, bem como colaboram no desenvolvimento de sementes e pólen. A função do motivo kelch em AtACBP foi relatada por estar ativamente envolvidos no metabolismo lipídico vegetal e também na reação de defesa (Leung, et al., 2004; Li, et al., 2008; Xiao, et al., 2008; Hsiao et al., 2014; Ye, et al., 2017; Raboanatahiry, et al., 2018).

Como foi visto, além do seu envolvimento em processos no metabolismo lipídico, síntese de TAG,  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos, regulação enzimática e expressão gênica, as proteínas ACBPs têm sido relatadas como proteínas envolvidas na resposta ao estresse vegetal, comprovado em diversos estudos, em diversos estágios de crescimento e desenvolvimento, incluindo floração, desenvolvimento do embrião, germinação de sementes e desenvolvimento de mudas (Du et al., 2016; Raboanatahiry et al., 2018).

Recentemente, estudos *in silico* e RT-qPCR estão sendo desenvolvidos com essa família gênica em algumas espécies de plantas, tais como milho (*Zea mays*) (Zhu et al., 2021), soja (*G. max*) (Azlan et al., 2021), videira (*Vitis vinifera*) (Dong et al., 2020), girassol (*Helianthus annuus*) (Aznar-Moreno, 2020), entre outras. Esses estudos têm permitido uma melhor compreensão das funções dessa família gênica dentro de cada espécie, ainda mais quando associados a análises *in silico*.

## **2.5 Caracterização *in silico***

A caracterização *in silico* permite a identificação dos genes, transcritos e proteínas presentes no genoma da espécie, sendo possível também a identificação dos elementos envolvidos na região promotora, estudos filogenéticos, análises de expressão *in silico*, interações proteína-proteína, modelagem por homologia e ancoragem molecular, dentre outras análises.

No estudo de Zhu et al. (2021) com milho (*Zea mays*), foi identificado a presença de 9 sequências putativas de ZmACBP no genoma, com membros pertencentes as quatro classes de ACBP, localizados em cromossomos distintos, cujo número de aminoácidos variou de 89 aminoácidos (aa) a 783 aa. Quanto a presença dos elementos reguladores de ação cis, foram encontrados aqueles que possivelmente desempenham um papel na diferenciação (elemento de expressão de meristema), crescimento e desenvolvimento (elementos envolvidos nas respostas hormonais), como também, aqueles envolvidos em respostas ao estresse ambiental (seca, baixa temperatura, defesa).

A modelagem molecular por homologia consiste em uma técnica que utiliza como molde uma proteína cuja estrutura tridimensional (3D) já foi resolvida e depositada em bancos de dados de proteínas, permitindo a predição da estrutura 3D de uma proteína de interesse. Esse método baseia-se no conceito de evolução molecular, partindo do princípio de que existe similaridade entre as sequências primárias da proteína em estudo e da proteína molde. Por apresentar elevada precisão entre as abordagens *in silico* para predição estrutural, a modelagem por homologia é considerada uma das técnicas mais confiáveis nessa área (Chothia & Lesk, 1986; Santos Filho & Alencastro, 2003; Moulton et al., 2011; Calixto, 2013).

Nesse contexto, Azlan et al. (2021) aplicaram essa metodologia na caracterização dos genes de ACBPs no genoma de soja (*Glycine max*), identificando 11 membros distribuídos entre as quatro classes conhecidas da família. Além da análise genômica, os autores realizaram a modelagem molecular por homologia para obter as estruturas tridimensionais (3D) das isoformas GmACBPs, ampliando o entendimento sobre suas possíveis funções estruturais e funcionais.

Aznar-Moreno et al. (2020) também definiu a estrutura tridimensional por homologia de um membro de ACBP presente no girassol (*Helianthus annuus* L.) além disso, realizou uma ancoragem molecular, conhecido também como *docking molecular*, utilizando a coenzima-A (ZINC8551087) como substrato. O local de interação e acoplamento da coenzima-A no domínio ACB foi altamente conservado em todas as sequências analisadas (resíduos Y132, Y135, K136, K158 e Y177 em girassol) e apresentaram boa interação com o ligante.

O docking molecular é uma ferramenta amplamente utilizada para prever as interações entre proteínas e seus ligantes, como demonstrado na ciência de alimentos, onde tem sido aplicado para elucidar a ligação de compostos bioativos a

proteínas (Tao et al., 2020). Embora essa técnica ofereça *insights* valiosos sobre o potencial de afinidade e os sítios de interação, é importante reconhecer suas limitações inerentes, especialmente no que diz respeito à modelagem simplificada do ambiente molecular e à precisão das estimativas energéticas.

Conforme destacado por estudos recentes na área de química medicinal, o *docking molecular* tem evoluído com a incorporação de novas abordagens, como inteligência artificial e aprendizado de máquina, que prometem aprimorar a predição das interações moleculares (Fokoue et al., 2020), atreladas aos níveis de expressão das proteínas.

## 2.6 Análises de Expressão

No estudo com os ACBPs de milho (*Z. mays*), os padrões de transcrição foram avaliados com base nos dados de *microarray* (microarranjos) para analisar o perfil de expressão dos nove genes durante o desenvolvimento do milho. A técnica RT-qPCR foi usada para validar os níveis de expressão na raiz, caule, folha, seda, sabugo imaturo, antera e kernel imaturo (10 DAP), todos os nove transcritos foram detectados em todos os tecidos, e os dados de RT-qPCR e de *microarray* diferiram em alguns casos (Zhu et al., 2021).

Dong et al. (2020) realizaram um estudo com a videira (*Vitis vinifera*), no qual caracterizaram os genes e proteínas presentes no genoma da espécie. Com base em dados públicos de *microarray*, obtiveram os perfis de expressão dos genes VvACBP em diferentes tecidos, além de apresentarem os padrões de expressão em resposta a diversos hormônios exógenos, estresses abióticos e bióticos. Para analisar os padrões de expressão dos seis genes VvACBP sob estresse hídrico, foi utilizado o RT-qPCR. Os resultados indicaram respostas diferenciadas, com alguns genes sendo regulados positivamente e outros negativamente no mesmo ponto temporal. Além disso, os padrões de expressão observados por RT-qPCR foram consistentes com aqueles obtidos nas análises de *microarray*.

Algumas informações sobre ACBP em *J. curcas* já estão disponíveis, o JcACBP pertencente à classe 1 de pinhão manso foi clonado e caracterizado, como uma proteína com 92 aa e massa molecular de 10,30 kDa, e exibiu 96% de identidade com *Vernicia fordii*. Quanto aos dados de expressão desse transcrito, esteve presente em diferentes órgãos, sendo a mais alta no fruto, onde o nível de expressão foi de acordo com o acúmulo lipídico (Jinfen et al., 2014; Raboanatahiry

et al., 2018). Sabendo da presença e importância das demais classes de ACBPs presentes na cultura, estudos mais avançados são necessários para a caracterização e identificação desta e de outras isoformas nos diferentes tecidos e em condições de estresse.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Identificação e Análise Estrutural dos Genes

A identificação dos genes codificantes de acyl-CoA-binding proteins (ACBPs) em *J. curcas* foi realizada a partir do genoma de referência disponível no NCBI (National Center for Biotechnology Information), utilizando a montagem RJC1\_Hi-C (GCA\_014843425.1, outubro de 2020).

A análise estrutural desses genes, incluindo a organização de éxons e íntrons, foi conduzida por meio da ferramenta Gene Structure Display Server (GSDS) 2.0 (Hu et al., 2015), a partir dos dados do genoma em formato GFF3. Para a caracterização dos elementos cis-regulatórios, as sequências promotoras correspondentes a 1500 pb a montante do sítio de início de tradução de cada gene foram identificadas e analisadas no servidor PlantCARE (Lescot et al., 2002).

Adicionalmente, a identificação de domínios conservados presentes nas sequências codificantes foi realizada utilizando a plataforma InterProScan (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>) (Paysan-Lafosse et al., 2022), permitindo a validação funcional das sequências candidatas com base na presença de domínios característicos da família ACBP. As imagens foram obtidas pelo MyDomains: Image Creator-Prosites (<https://prosite.expasy.org/cgi-bin/prosite/mydomains/>).

#### 3.2 Análises de Expressão Gênica *In silico*

A análise *in silico* dos níveis de expressão dos genes *JcACBPs* em diferentes tecidos de *J. curcas* (folha, flor, caule, raiz e frutos) foi realizada a partir de dados públicos de RNA-Seq disponíveis no repositório NCBI/SRA (National Center for Biotechnology Information) através dos bioprojects (SRR5974844; SRR5974855; SRR5974856; SRR7640476; SRR7640477; SRR7640478; SRR1565798; SRR1565800; SRR1565802; SRR1565804; SRR10901868; SRR10901870).

Para o processamento desses dados, foi utilizado o ambiente de bioinformática Galaxy (<https://usegalaxy.org>) (The Galaxy Community, 2022). Inicialmente, os arquivos de leitura foram recuperados no formato FASTQ empregando a ferramenta Faster Download and Extract Reads in FASTQ format from NCBI SRA (Galaxy Version 3.0.5+galaxy3). Em seguida, a quantificação da expressão gênica foi realizada utilizando a ferramenta Salmon quant (Galaxy Version 1.10.1+galaxy0) (Patro et al., 2017), que permite a quantificação rápida e precisa de transcritos a partir de leituras de RNA-Seq.

### 3.3 Desenho e amplificação dos primers

Os oligonucleotídeos iniciadores (primers) foram desenhados e validados utilizando o software Primer3Plus ([www.primer3plus.com/index.html](http://www.primer3plus.com/index.html)), a partir das sequências dos genes ACBP de *J. curcas*, obtidas no genoma de referência da espécie (GCF\_014843425.1). A validação dos primers quanto à estabilidade estrutural, formação de dímeros e estruturas secundárias foi realizada por meio da ferramenta OligoAnalyzer ([www.idtdna.com/calc/analyzer](http://www.idtdna.com/calc/analyzer)).

Para o teste de amplificação das regiões genômicas contendo os genes ACBPs do pinhão manso e a otimização das reações de PCR, utilizou-se o DNA dos genótipos: UFRB03, UFRB05, UFRB09, UFRB11, UFRB13 e UFRB14, pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma (BAG) do NBIO.

Para o isolamento do DNA genômico, foram coletadas folhas jovens e saudáveis, as quais foram acondicionadas em papel alumínio e mantidas sob resfriamento em gelo até sua chegada ao laboratório, onde foram imediatamente processadas para a extração do material genético.

A extração de DNA foi realizada segundo o protocolo descrito por Doyle & Doyle (1990) com modificações. A quantidade e a qualidade de DNA foram avaliadas por análise comparativa com concentrações conhecidas de DNA lambda (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) em gel de agarose a 0,8%, corado com brometo de etídeo (0,5 mg/mL). As amostras foram diluídas em água ultrapura, para ajuste de sua concentração (10 ng/ $\mu$ L).

Os pares de primers (Forward e Reverse) desenhados foram sintetizados, na escala de 25 nmol (Ludwig Biotecnologia) e utilizados na amplificação dos genes de *J. curcas*.

Utilizou-se um total de três misturas para as reações de PCR – contendo diferentes concentrações de DNA, cloreto de magnésio, primers Forward e Reverse, e dNTPs – e de sete temperaturas de anelamento, para os seis clones (Tabela 1).

**Tabela 1:** Volume dos componentes das reações, temperatura de anelamento e tempo de extensões utilizadas na validação dos pares de primers, para os clones de pinhão manso. Quantidade dos reagentes por reação em microlitros.

Mistura	DNA (ng)	MgCl <sub>2</sub> (μL)	Primers (μL)	Taq (μL)	dNTP (μL)	Temperatura de Anelamento (° C)	Extensão
1	30	0,96	3,2	0,16	0,16	50 °C, 52 °C, 58 °C e 62 °C	1 min.
2	30	0,96	3,2	0,4	0,4	50 °C	1 min.
3	70	2	4	0,2	0,5	50 °C, 55 °C	1min./1k de pb do amplicon

As reações de amplificação estabelecidas e padronizadas foram preparadas em um volume final de 20 μL. A reação final foi composta por 7 μL de DNA genômico (70 ng de gDNA), 2 μL de tampão de reação 10x (contendo 100 mM Tris-HCl, pH 8,4 e 500 mM KCl), 0,5 μL de dNTP mix (250 μM de cada desoxinucleotídeo), 2 μL de MgCl<sub>2</sub> (2,5 mM, a partir de solução estoque de 25 mM), 4 μL dos primers forward e reverse (20 μM), 0,2 μL de Taq DNA polimerase (1 U por reação), a partir de solução estoque de 5 U/μL) e água ultrapura (Invitrogen™) para completar o volume final.

Para otimização das condições de amplificação, diferentes programações foram testadas até que se obtivessem os resultados esperados para cada par de primer.

As amplificações do DNA dos genótipos com os pares de primers desenhados, foram conduzidas em termociclador Biocycler MJ96+/MJ96G (Applied Biosystems do Brasil Ltda., São Paulo, SP). A programação final definida foi: desnaturação inicial a 94 °C por 5 minutos, seguida de 40 ciclos com as seguintes condições: desnaturação a 94 °C por 1 minuto; anelamento a 55 °C por 2 minutos. O tempo de extensão foi ajustado para os diferentes genes-alvo: 2,5 minutos para JcACBP1, JcACBP3 e JcACBP4, e 8,5 minutos para JcACBP2. A extensão final foi a 72 °C, variando de 1 minuto e 40 segundos a 4 minutos, conforme o protocolo estabelecido para cada marcador.

Os produtos de amplificação foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%, contendo brometo de etídio (0,001%), em tampão TBE. Para o carregamento, foi adicionado 5 μL de corante Azul de Bromofenol a cada amostra. A corrida eletroforética foi conduzida a 70 V por 2 horas e 30 minutos. Como padrão de tamanho molecular, foi utilizado um marcador DNA Ladder (Invitrogen™ 100 bp),

com bandas de referência de 2.000 a 100 pares de base. Ao término da corrida, os géis foram visualizados sob luz ultravioleta utilizando o sistema de fotodocumentação digital VilberLourmat.

### **3.4 Caracterização Química e Funcional das Proteínas**

As propriedades físico-químicas das proteínas codificadas pelos genes JcACBPs, incluindo ponto isoelétrico teórico (pI), peso molecular (MW) e grau de hidropaticidade (GRAVY), foram preditas utilizando o servidor ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>).

A predição da localização subcelular foi realizada por meio da ferramenta DeepLoc 2.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/DeepLoc-2.0/>) (Armenteros et al., 2017). A presença ou ausência de peptídeos sinal nas sequências proteicas foi avaliada utilizando o SignalP 6.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-6.0/>) (Teufel et al., 2022). Além disso, sítios putativos de fosforilação nas posições de serina, treonina e tirosina (Ser/Thr/Tyr) foram identificados pelo NetPhos 3.1 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetPhos-3.1/>) (Blom et al., 1999), enquanto os potenciais sítios de N-glicosilação do tipo Asn-X-Ser/Thr foram determinados com o NetNGlyc 1.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetNGlyc-1.0/>) (Gupta & Brunak, 2002). Para as predições de N-glicosilação, considerou-se apenas a modificação que ocorre no resíduo de asparagina posicionado em sequência com qualquer aminoácido (exceto prolina) seguido de serina ou treonina.

A presença de regiões transmembranares nas sequências proteicas foi investigada utilizando o TMHMM Server v. 2.0 ([www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/](http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/)). Por fim, a predição de regiões de desordem estrutural e a estrutura secundária das proteínas foi realizada com o servidor NetSurfP 3.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetSurfP-3.0/>) (Hoie et al., 2022).

### **3.5 Modelagem por homologia e Ancoragem molecular**

As sequências de aminoácidos das proteínas JcACBP1, JcACBP2, JcACBP3 e JcACBP4 foram submetidas à modelagem tridimensional por homologia utilizando a plataforma SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>). Os modelos foram selecionados com base na cobertura da sequência-alvo, similaridade com o molde,

e nos parâmetros GMQE (Global Model Quality Estimation) e QMEAN (Qualitative Model Energy ANalysis) fornecidos pela própria ferramenta. A visualização das estruturas, bem como a extração de imagens ilustrativas, também foi realizada no ambiente do SWISS-MODEL.

A avaliação estereoquímica foi realizada por meio dos diagramas de Ramachandran, gerados automaticamente pela ferramenta, e do Z-score obtido no ProSA-web, permitindo validar a qualidade estrutural dos modelos em relação a estruturas depositadas no PDB.

As moléculas dos ligantes fisiológicos palmitoil-CoA (PUBCHEM CID: 644109), oleoil-CoA (PUBCHEM CID: 5497111) e estearoil-CoA (PUBCHEM CID: 94140) foram obtidas a partir do banco de dados PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), sendo posteriormente convertidas para o formato adequado (.pdbqt) utilizando o Open Babel ([www.cheminfo.org/Chemistry/Cheminformatics/FormatConverter/index.html](http://www.cheminfo.org/Chemistry/Cheminformatics/FormatConverter/index.html)). A escolha desses ligantes baseou-se no fato de corresponderem aos principais ácidos graxos presentes nas sementes de *J. curcas*, o que torna relevante a análise do potencial de interação dessa ACBP com tais moléculas.

A preparação dos complexos proteína-ligante foi realizada no programa AutoDockTools v 1.5.7, onde foram adicionados hidrogênios e definidos os arquivos .pdbqt para proteínas. A delimitação do grid box foi realizada com base nos resíduos previamente descritos como constituintes do sítio de ligação funcional em ACBPs de *Oryza sativa*, e conservados em JcACBP1: Lys30, Lys34, Lys56, Tyr75, Phe7, Leu27 e Ala55 (Raboanatahiry et al., 2018). Esses resíduos serviram como referência para o centro da cavidade, garantindo que o acoplamento fosse direcionado a uma região funcionalmente relevante.

As simulações de docking molecular foram conduzidas utilizando o software AutoDock Vina, com parâmetros padrão de exaustividade e flexibilidade. As conformações com menor energia livre de ligação ( $\Delta G$ ) foram selecionadas para análise. As estruturas dos complexos proteína-ligante gerados foram visualizadas no programa PyMOL, onde foram salvos os arquivos finais. As imagens bidimensionais e tridimensionais das interações moleculares foram obtidas no Discovery Studio Visualizer (BIOVIA), permitindo a identificação dos tipos de interação.

### **3.6 Predição de Interações Proteína-Proteína**

As redes de interação proteína-proteína foram preditas utilizando o banco de dados STRING (versão 12.0; <https://string-db.org/>). A análise considerou evidências provenientes de coexpressão, dados experimentais, predições computacionais e anotações em bancos de dados públicos. O limiar mínimo de confiança para as interações foi estabelecido em 0,400 (confiança média).

As redes de interação geradas foram visualizadas na interface gráfica do STRING, onde os nós representam as proteínas e as arestas indicam as interações previstas. Informações funcionais e análises de enriquecimento foram obtidas por meio das ferramentas integradas da plataforma.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Família gênica de ACBPs no genoma de *J. curcas* L.

Na plataforma NCBI, atualmente encontram-se disponíveis cinco versões do genoma de *J. curcas*, sendo selecionado, para este estudo, o genoma de referência RJC1\_Hi-C (GCA\_014843425.1) para a prospecção dos genes da família ACBP.

A partir dessa análise, foram identificados quatro genes pertencentes à família ACBP, os quais foram denominados neste trabalho como JcACBP1, JcACBP2, JcACBP3 e JcACBP4. Ao considerar que o genoma utilizado ainda se encontra em fase de montagem, não foi possível determinar a localização cromossômica exata desses genes, sendo sua posição restrita aos respectivos scaffolds.

O comprimento dos genes identificados apresentou considerável variação, oscilando entre 1975 pb e 8449 pb (Tabela 2 e Figura 2), o que pode estar relacionado à presença de diferentes números e tamanhos de éxons e íntrons, característica já observada em estudos semelhantes com famílias gênicas ACBPs em outras espécies vegetais (Amiruddin et al., 2017; Liao et al., 2019).

**Tabela 2.** Características dos genes *JcACBPs* presentes no genoma de *Jatropha curcas* L, segundo o genoma RJC1\_Hi-C presente no NCBI. ACBP: Acyl CoA binding protein (Proteínas ligantes de acil-CoA); NCBI: National Center for Biotechnology Information (Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia)

Gene	Nome	Localização	Tamanho (pb)	Éxons	Íntrons
<i>JcACBP1</i>	105632678 (ACBP)	NW_023590789.1:c224 08407-22406192	2216	4	3
<i>JcACBP2</i>	105647518 (LOC105647518)	NW_023590682.1:c210 912-202464	8449	18	17
<i>JcACBP3</i>	105639818 (LOC105639818)	NW_023591768.1:3548 3-37457	1975	3	2
<i>JcACBP4</i>	105630872 (LOC105630872)	NW_023590956.1:4340 965-4343509	2545	4	3

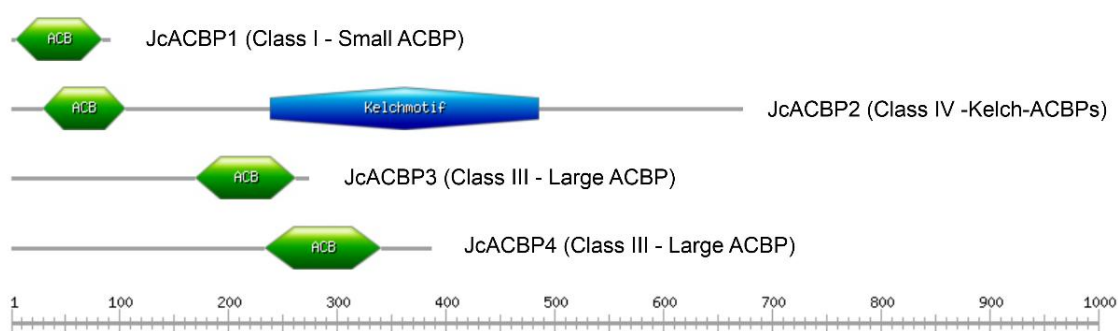
Os genes da família ACBP apresentam-se relativamente conservados ao longo da evolução e foram identificados em todas as plantas analisadas até o momento, inclusive em organismos mais primitivos, como microalgas verdes, o que sugere que essa família gênica pode ter se originado a partir desses organismos ancestrais (Zhu et al., 2021). Esses genes foram amplamente anotados e

caracterizados funcionalmente em diversas espécies vegetais, incluindo a planta modelo *Arabidopsis thaliana* (Du et al., 2016).

Estudos filogenômicos e de caracterização estrutural revelaram a presença de oito proteínas ACBP em *Populus trichocarpa* (Chang et al., 2023), seis em *Hevea brasiliensis* (Nie et al., 2018) e nove em *Zea mays* (Zhu et al., 2021). Em espécies do gênero *Gossypium*, a diversidade da família também foi expressiva, com a identificação de 11 a 20 genes ACBP em diferentes genomas (Chen et al., 2023), evidenciando a ampliação e diversificação dessa família gênica em espécies de interesse agrônomo e industrial.

Os genes *JcACBPs* identificados em *J. curcas* foram distribuídos entre as classes I, III e IV, compreendendo um membro da Classe I (*JcACBP1*), correspondente ao pequeno ACBP, contendo exclusivamente o domínio conservado ACB; dois membros da Classe III (*JcACBP3* e *JcACBP4*), classificadas como grandes ACBPs; e um membro da Classe IV (*JcACBP2*), caracterizado pela presença do domínio ACB associado a motivos kelch na região intermediária da sequência proteica (Figura 1). Ressalta-se a ausência de representantes da Classe II, definidos pela presença adicional de domínios de anquirina, o que pode indicar uma possível perda evolutiva dessa classe na espécie.

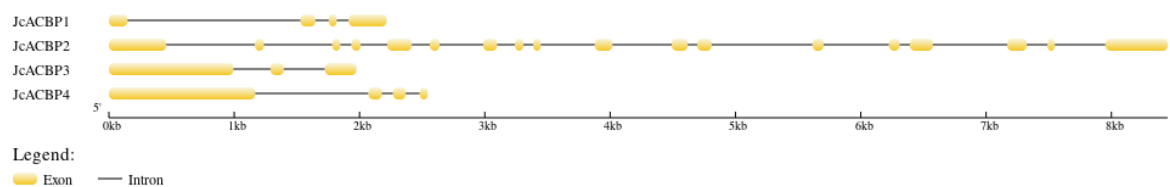
**Figura 1.** Representação esquemática dos domínios conservados nas proteínas *JcACBP1*, *JcACBP2*, *JcACBP3* e *JcACBP4* de *J. curcas*, gerada com o servidor MyDomains: Image creator (Prosite). A escala indica a posição dos resíduos ao longo da cadeia polipeptídica.



Essas variações estruturais entre as classes refletem diferenças funcionais observadas em outras espécies, reforçando a importância da caracterização detalhada dos membros da família ACBP em *J. curcas* para melhor compreender

seus papéis no metabolismo lipídico e na adaptação da planta (Du et al., 2016; Lung & Chye, 2019).

**Figura 2.** Estrutura gênica das JcACBPs. Éxons: estrutura amarela. Íntrons: em linhas. Os desenhos das estruturas foram obtidos pelo GSDS 2.0: *Gene Structure Display Server*. ACBP: Acyl CoA binding protein (Proteínas ligantes de acil-CoA).



Quanto à estrutura gênica, o número de éxons e íntrons variou entre as classes, embora tenha seguido um padrão conservado observado em ACBPs previamente estudados (Figura 2). Os pequenos ACBPs da Classe I tipicamente apresentam quatro éxons, enquanto os genes da Classe IV, que contêm motivos kelch, exibem o maior número de éxons, em torno de dezoito; enquanto os grandes ACBPs das Classes II e III possuem até sete éxons (Zhu et al., 2021).

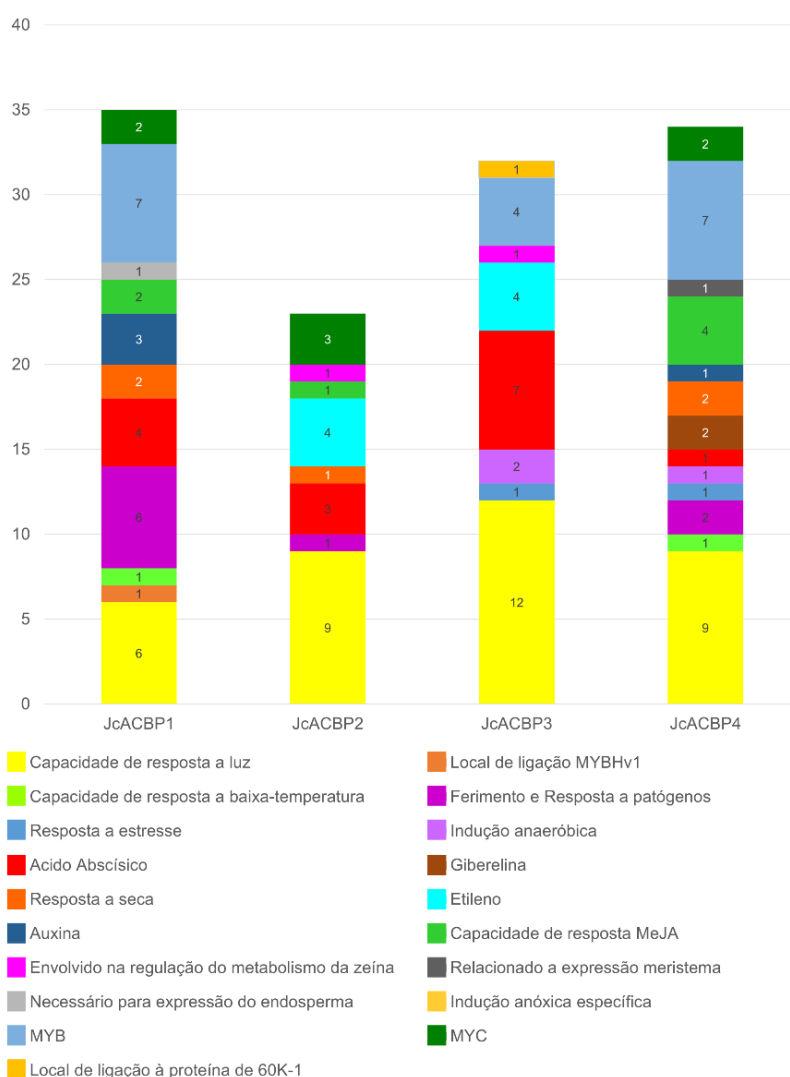
#### 4.2 Análise da região promotora

As sequências promotoras dos genes JcACBPs, correspondentes a 1500 pb a montante do sítio de início da tradução, foram analisadas com o objetivo de identificar elementos *cis*-regulatórios, os quais desempenham papéis essenciais na modulação da transcrição gênica. Os resultados indicaram que os promotores desses genes possuem elementos associados a distintos processos fisiológicos e bioquímicos, potencialmente relacionados à resposta a estímulos endógenos e exógenos (Figura 3).

Dentre os elementos identificados, destacaram-se as TATA-box e CAAT-box, motivos conservados amplamente descritos em regiões promotoras, fundamentais para o recrutamento da maquinaria transcricional e o controle basal da expressão gênica. Além disso, foram observados diversos elementos relacionados a respostas ambientais, como Box 4, G-box, GATA-motif, AT1-motif e TCT-motif, associados à resposta à luz; as-1, envolvido na resposta à seca; LTR, relacionado a baixas temperaturas; e STRE, elemento característico de resposta a estresses diversos. Motivos como W box, WUN e WRE3 também foram identificados, associados ao mecanismo de resposta a ferimentos e ao ataque de patógenos (Figura 3).

No que se refere aos elementos responsivos a fitohormônios, os motivos associados ao ácido abscísico (ABRE, ABRE3 e ABRE4) foram os mais frequentes. Adicionalmente, foram detectados elementos relacionados à auxina (TGA-box e TGA-element), etileno (ERE), metil jasmonato (TGACG-motif) e giberelinas (GARE-motif), evidenciando a possível participação dos genes *JcACBPs* na integração de sinais hormonais e na regulação de respostas adaptativas em *J. curcas* (Figura 3).

**Figura 3.** Elementos *cis* presentes nas regiões promotoras dos genes *JcACBPs*.



A análise dos elementos *cis*-regulatórios nas regiões promotoras dos genes permite inferir os processos biológicos em que esses genes podem estar envolvidos, uma vez que esses elementos controlam a ativação da expressão gênica. Os resultados indicam que os *JcACBPs* participam de processos relacionados à germinação, desenvolvimento e resposta a estresses bióticos e abióticos,

evidenciado pela presença de elementos associados a vias hormonais e ao estresse ambiental.

Resultados semelhantes foram descritos em *Arabidopsis thaliana*, onde três dos seis membros da família ACBP, localizados no citosol, foram funcionalmente associados a processos como metabolismo lipídico, desenvolvimento vegetal e respostas a estresses abióticos e bióticos, reforçando a relevância fisiológica dessa família gênica em plantas (Xiao & Chye, 2009). De forma mais abrangente, Xiao & Chye (2011) destacam que, além do transporte de acil-CoA, as ACBPs atuam na integração de sinais ambientais e hormonais, mediando respostas a estresses e regulando o desenvolvimento, o que corrobora a provável atuação dos *JcACBPs* nas funções sugeridas pela análise dos seus elementos *cis*-regulatórios.

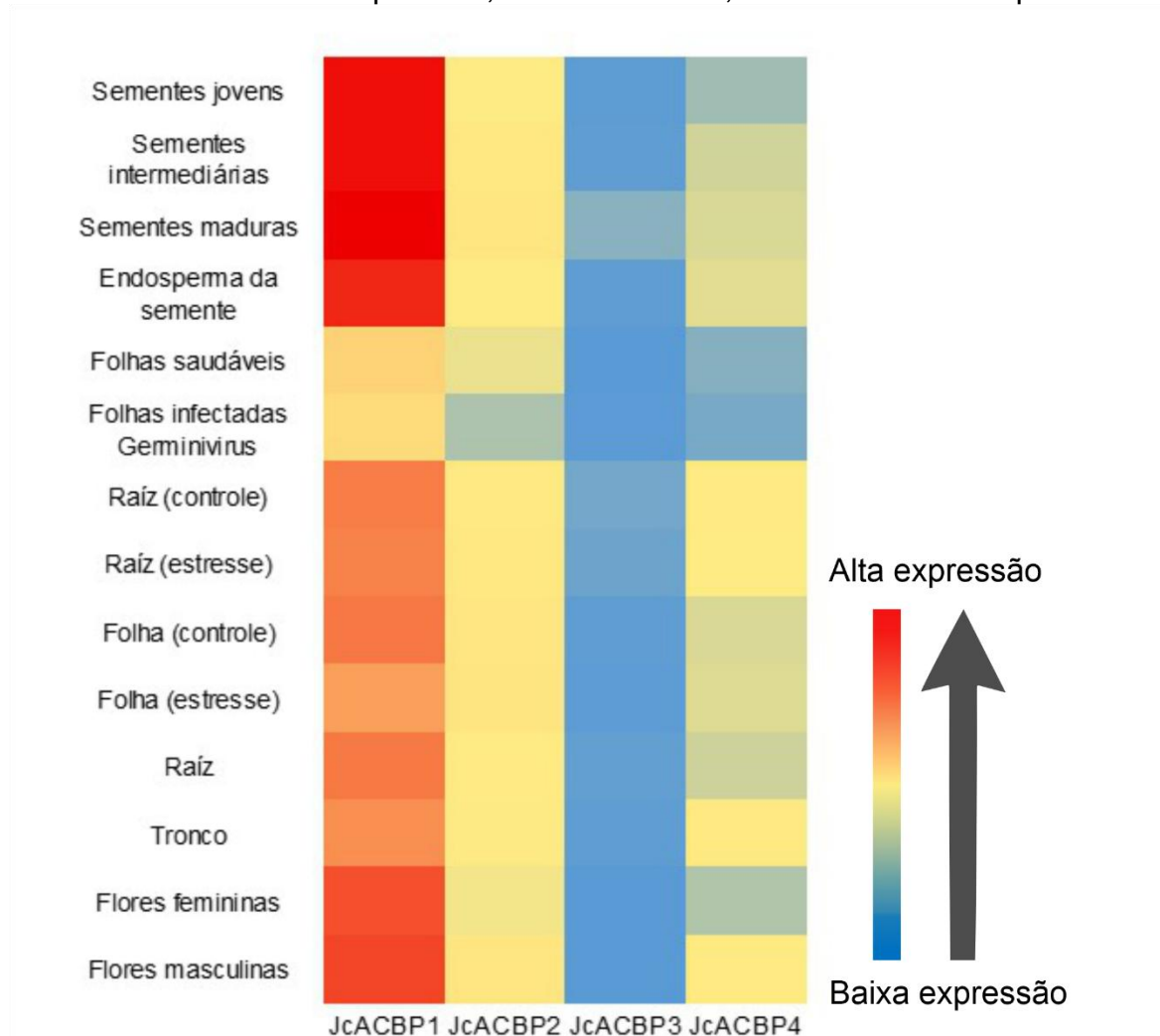
A análise dos elementos *cis*-regulatórios nos promotores dos genes ACBP em *J. curcas* revela um padrão conservado com outras espécies, como *Zea mays* (Zhu et al., 2021), incluindo elementos associados a respostas hormonais (auxina, ácido abscísico, giberelina, etileno) e estresses abióticos e bióticos. Esse padrão é corroborado por estudos em *Hordeum vulgare*, que demonstram a modulação da expressão dos genes ACBP por estresses abióticos e aplicação exógena de hormônios, indicando o papel crucial dessas proteínas na adaptação ao ambiente (Chang et al., 2024). Esses dados reforçam a hipótese de que os *JcACBPs* possuem funções multifacetadas, integrando sinais endógenos e exógenos para mediar respostas fisiológicas essenciais em *J. curcas*, bem como associadas a expressão em diferentes partes da planta.

### 4.3 Análise de expressão

A partir da análise *in silico* de bibliotecas de RNA-Seq foram avaliados os níveis de expressão dos genes *JcACBPs* em diferentes tecidos — incluindo raízes, caule, folhas, flores e sementes — bem como em condições de estresse em raízes e folhas.

Conforme ilustrado na Figura 4, todos os genes *JcACBPs* foram expressos nos tecidos e condições avaliadas, com destaque para *JcACBP1*, que apresentou os níveis mais elevados em todas as amostras, principalmente em sementes, raízes e, esta última, sob estresse. Os genes *JcACBP2* e *JcACBP4* exibiram níveis intermediários de expressão, enquanto *JcACBP3* manteve expressão reduzida na maior parte dos tecidos.

**Figura 4.** Gráfico de calor de expressão gênica das JcACBPs em diferentes tecidos. Azul: menor expressão, Amarelo: média, Vermelho: maior expressão.



A elevada expressão de *JcACBP1*, pertencente à Classe I, é compatível com o padrão relatado para ACBPs desta classe em outras espécies, onde são descritos como essenciais para o desenvolvimento vegetal e acúmulo de óleo nas sementes, além de participarem de processos associados à resposta a estresses (Du et al., 2016; Aznar-Moreno et al., 2016; Guo et al., 2019a; Amiruddin et al., 2020). Este perfil também se assemelha ao observado em *Zea mays* e *Hordeum vulgare*, nas quais genes ACBP apresentaram expressão diferencial em tecidos específicos e sob condições de estresse, reforçando a hipótese de um padrão conservado de regulação e função dessa família gênica em plantas (Zhu et al., 2021; Chang et al., 2024).

Estudos anteriores relataram que a deleção de genes *AtACBP* da Classe I resultou em alterações no conteúdo e na composição lipídica das sementes, além de reduzir significativamente seu peso, reforçando o papel essencial dessas proteínas na síntese e armazenamento de lipídios (Hsiao et al., 2014; Guo et al., 2019b). Isso é compatível com a função das ACBPs no transporte de ésteres de acil-CoA para o retículo endoplasmático, onde ocorre a formação de triacilgliceróis (TAGs) — etapa central na biossíntese de óleo em sementes (Bates et al., 2013; Haslam et al., 2016; Kim, 2020).

#### 4.4 Desenho e amplificação dos primers por PCR convencional

O desenho dos primers específicos para os genes ACBP de *J. curcas* foi conduzido *in silico* com base no genoma de referência da espécie, permitindo prever e otimizar parâmetros-chave antes da validação experimental. Além disso, foram desenhados de modo a se localizarem em regiões pertencentes aos éxons dos genes de interesse, garantindo a amplificação de sequências codificantes (Suplementar 1).

Os quatro pares de oligonucleotídeos desenvolvidos apresentaram entre 22–25 pb, intervalo considerado ideal para PCR convencional e RT-qPCR, por conciliar alta especificidade e eficiência de anelamento sem perda de rendimento (Lorenz, 2012; Green; Sambrook, 2019; Khehra; Padda; Swift, 2023; Azlam et al., 2021).

**Tabela 3.** Sequências e parâmetros físico-químicos dos primers específicos para genes ACBP de *J. curcas*. F: forward; R: reverse; TM: temperatura de Melting; GC %: porcentagem de Guanina e Citosina; bp: pares de base.

Gene-alvo	Sentido	Sequência (5'→3')	Tm (°C)	GC %	Amplicon (bp)
JcACBP1	F	GCTCACGCCTTTATTGGCGATACG	60,3	54,2	2136
	R	AGGCAATTTCAAGCACACGCAAGAG	60,5	48,0	
JcACBP2	F	AGGGCGAGGAGGAGGAATAAATGG	60,4	54,2	7834
	R	GAGTTCCTGCTAGCCAACCCC	60,1	61,9	
JcACBP3	F	GAAAAGTGTTGGAGGGAGGGGAAG	59,5	54,2	1754
	R	GCTGCAAGGTTCTGGATGGTTAG	60,0	54,2	
JcACBP4	F	CTTTTTAGGACGCCTCCGTGAC	58,0	54,6	2534
	R	CCTCCACGTTTGGGCCAATATAATC	57,9	48,0	
Média			59,59	53,66	

Os primers apresentaram conteúdo médio de guanina e citosina (GC) de 53,66%, com variação entre 48,0% e 61,9%, valores que se mantêm dentro da faixa considerada ideal (40–60%) para garantir estabilidade e eficiência na amplificação

por PCR (Green & Sambrook, 2019). O teor de GC influencia diretamente a temperatura de anelamento ( $T_m$ ), cujos valores variaram entre 57,9 °C e 60,5 °C (Tabela 2), permanecendo em uma faixa adequada para reações simultâneas e compatíveis com protocolos padrões (Kayama et al., 2021).

Embora exista uma correlação clássica entre a porcentagem de GC e a  $T_m$  de oligonucleotídeos, os dados deste estudo revelaram uma exceção notável: o primer reverso de JcACBP1 apresentou a maior  $T_m$  (60,5 °C), apesar de seu menor conteúdo de GC (48,0%). Esse achado indica que a  $T_m$  não é determinada unicamente pela proporção de bases GC, mas também por fatores como o comprimento do oligonucleotídeo, a distribuição das bases, especialmente a presença de pares GC nas extremidades 3', a ausência de estruturas secundárias indesejadas e as condições iônicas do meio, como a concentração de  $Mg^{2+}$ , os quais afetam a estabilidade e a eficiência de hibridização (Chavali et al., 2005; Bakhtiarizadeh et al., 2016).

Todos os primers desenhados apresentaram estruturas secundárias previstas do tipo estruturas em alça (hairpin), homodímeros e heterodímeros. No entanto, em relação às estruturas em alça, observou-se que as extremidades 3' e 5' de todos os primers permaneceram livres, sem envolvimento na formação do grampo, que torna essas conformações aceitáveis, visto que não comprometem a hibridização com o DNA molde durante a reação de PCR (Meagher et al. 2019).

Apesar da presença de homodímeros e heterodímeros, os quais podem competir com o molde e reduzir a eficiência da amplificação, os primers JcACBP1, JcACBP3 e JcACBP4 foram capazes de promover a amplificação específica, gerando amplicons com o tamanho esperado. No entanto, foi observado uma baixa intensidade das bandas, assim como a presença de produtos menores acumulados na parte inferior das corridas, tais achados sugerem interferência parcial na reação, possivelmente relacionada à formação de dímeros de primers ou produtos de amplificação inespecífica (Singh et al., 2000).

Para a determinação da temperatura ideal de anelamento, levando em consideração os valores de  $T_m$  previstos, foram inicialmente testadas as temperaturas de 48 °C, 50 °C, 52 °C, 58 °C e 62 °C. A temperatura de anelamento ideal para a reação foi de 55 °C, valor compatível com a faixa recomendada para reações de PCR, entre 55 °C e 60 °C (Santa Lucia Jr., 1998; Green; Sambrook, 2019).

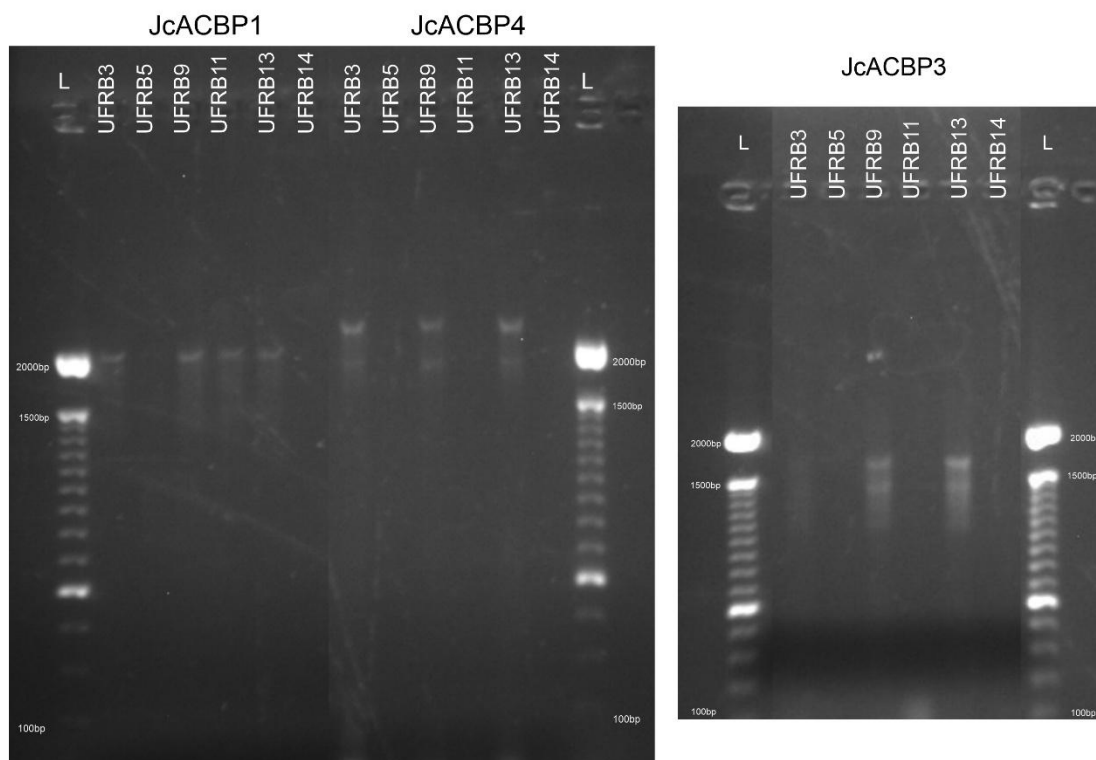
A análise por PCR convencional evidenciou a amplificação dos genes JcACBP1, JcACBP3 e JcACBP4 em determinados genótipos de *J. curcas*. Não foi observada amplificação para o gene JcACBP2 em nenhum dos genótipos analisados, fato que pode ser atribuído ao maior tamanho do amplicon previsto para esse marcador (7834pb), possivelmente demandando ajustes nas condições de reação ou o uso de polimerases de maior processividade.

O gene JcACBP1 apresentou amplificação nos genótipos UFRB03, UFRB09, UFRB11 e UFRB13. Para o gene JcACBP3, a amplificação foi detectada nos genótipos UFRB09 e UFRB13, enquanto o gene JcACBP4 foi amplificado nos genótipos UFRB03, UFRB09 e UFRB13 (Figura 5.).

Os genótipos UFRB05 e UFRB14 não exibiram produtos amplificados para nenhum dos pares de primers avaliados, sob as condições experimentais empregadas, o que pode indicar ausência das sequências-alvo ou baixa eficiência de amplificação nesses materiais (Figura 5).

A ausência de amplificação do gene JcACBP2 na PCR convencional pode estar associada à presença de polimorfismos na região-alvo dos primers. Análises *in silico* realizadas com genomas disponíveis no NCBI, por meio da ferramenta seqkit amplicon e alinhamentos múltiplos no ClustalW, revelaram variações nucleotídicas relevantes que podem ter comprometido o pareamento dos oligonucleotídeos (dados não mostrados). Esses polimorfismos também podem explicar a não amplificação observada dos primers nos genótipos UFRB05 e UFRB14, sugerindo diferenças genômicas específicas nesses acessos, capazes de interferir na eficiência da PCR.

**Figura 5:** Perfil de bandas dos produtos de PCR convencional obtidos com os primers específicos para os genes *JcACBP1*, *JcACBP3* e *JcACBP4* em genótipos de *J. curcas*. As bandas correspondem aos amplicons esperados para cada marcador. L: DNA Ladder (Invitrogen™ 100 bp).



Quando correlacionados com o teor de óleo desses genótipos, obtidos por Farias (2018), os maiores teores de óleo foram encontrados em UFRB5 e UFRB14 (Tabela 4).

**Tabela 4:** Desempenho dos clones (CLN) em relação ao teor de óleo do albúmen (TOA) em *J. curcas* aos 42 meses após o plantio.

Clones	TOA
UFRB03	52.29b
UFRB05	54.02a
UFRB09	52.29b
UFRB11	52.06b
UFRB13	51.98b
UFRB14	54.56a

Fonte: Dados retirados da tese de Luis Fernando Farias (2018).

A ausência de bandas correspondentes aos genes JcACBPs em determinados genótipos de *J. curcas* com alto teor de óleo é particularmente relevante considerando a função bem estabelecida das ACBPs no transporte intracelular de acil-CoA para os locais de biossíntese de lipídios. Em geral, espera-se que isoformas de ACBP estejam ativamente envolvidas em tecidos ricos em óleo, dado seu papel clássico na manutenção do *pool* de acil-CoA e na facilitação da síntese de triacilgliceróis (TAG) (DU et al 2016; Ling et al., 2023). A ausência detectada nesta pesquisa, sugere uma possível correlação inversa entre a presença de ACBP e o teor de óleo em sementes de *J. curcas*, fenômeno até então pouco explorado para a espécie.

Este comportamento diferencial reforça a hipótese de que, embora as ACBPs sejam componentes essenciais do metabolismo lipídico, como já foi mencionado, nem todas atuam diretamente como promotoras do acúmulo de óleo, podendo estar envolvidas na beta-oxidação lipídica (Rasmussen et al., 1994). A ausência de ACBP em genótipos de *J. curcas* pode representar um mecanismo alternativo, onde a ausência de determinadas isoformas diminui a retenção de acil-CoA em compartimentos subcelulares ou o “sequestro” destes para vias de beta-oxidação, favorecendo seu direcionamento para a via de formação de TAG.

Em um mutante de *Oryza sativa*, deficiente na isoforma peroxissomal OsACBP6, observou-se acúmulo de acil-CoA e um leve aumento de TAG em folhas, acompanhado por crescimento comprometido, desequilíbrio na homeostase redox e alteração na sinalização de hormônios como jasmonato (Meng et al., 2020). Embora o acúmulo lipídico tenha sido detectado, os efeitos colaterais da ausência de determinadas ACBPs podem trazer consequências pleiotrópicas. No entanto, a provável ausência das ACBPs em *J. curcas* parece não trazer prejuízos fisiológicos aparentes, uma vez que as plantas avaliadas não apresentaram sintomas visíveis de estresse ou redução de biomassa (tais parâmetros precisam ser avaliados experimentalmente).

Como controle positivo, para confirmarmos se o DNA genômico desses genótipos que não amplificaram, foi realizado um teste utilizando marcadores SSRs já conhecidos e usados para mamona (Figura suplementar 1). Observou-se que apenas o DNA do genótipo UFRB5 não apresentou amplificação para este marcador controle, os demais, incluindo o UFRB14, que não apresentou amplificação para nenhum dos primers aqui testados, apresentaram amplificação.

Outra hipótese é que esse comportamento, embora incomum, pode indicar um mecanismo compensatório ou a atuação de outras vias metabólicas envolvidas no acúmulo lipídico em *J. curcas*, merecendo investigações adicionais para esclarecer o papel preciso dessas proteínas no metabolismo lipídico da espécie.

A realização de análises complementares, incluindo a quantificação de espécies reativas de oxigênio (ROS), a expressão de genes de defesa, a avaliação do crescimento vegetativo e do tamanho das sementes nos genótipos sem ACBP, é recomendada. Além disso, torna-se necessária a confirmação da ausência de isoformas por meio de qPCR ou RNA-Seq, bem como a caracterização detalhada do perfil de acil-CoAs e lipídios neutros. Essas análises permitirão elucidar se o acúmulo lipídico observado resulta diretamente da ausência de ACBP ou de mecanismos compensatórios. Por fim, estudos funcionais envolvendo o silenciamento ou a superexpressão de ACBP em *J. curcas* poderiam confirmar o papel causal dessa proteína no acúmulo de óleo e nos possíveis efeitos secundários associados, bem como estudos das características físico-químicas e biológicas destas proteínas.

#### **4.5 Análise das proteínas JcACBPs**

Os genes que codificam as proteínas JcACBPs originaram uma única sequência de aminoácidos para cada isoforma, sem evidências de splicing alternativo durante a transcrição. As proteínas apresentaram variação significativa no comprimento, com 92 resíduos de aminoácidos em JcACBP1 e 673 resíduos em JcACBP2. Nenhuma delas possuía peptídeo sinal, e as predições indicaram que JcACBP1 e JcACBP2 são direcionadas ao citoplasma, enquanto JcACBP3 e JcACBP4 são associadas ao retículo endoplasmático.

Os pesos moleculares das proteínas variaram de 10,3 kDa (JcACBP1) a 73,71 kDa (JcACBP2), e os pontos isoelétricos (pI) variaram entre 4,43 (JcACBP4) e 5,53 (JcACBP1) (Tabela 5).

Quanto à hidropaticidade, avaliada pelo índice GRAVY (Grand Average of Hydropathicity), as proteínas apresentaram valores negativos entre -5,89 (JcACBP1) e -4,63 (JcACBP2 e JcACBP3), sugerindo que todas têm alta afinidade por ambientes aquosos, característica compatível com proteínas solúveis (Tabela 3).

**Tabela 5.** Características físico-químicas das proteínas JcACBPs. ID: número de acesso NCBI. pI: ponto Isoelétrico; GRAVY: índice de hidropaticidade.

Proteína	ID	Tamanho (aa)	Pept. Sinal	Peso molecular (kDa)	pI	Prob. de Exportação	GRAVY
JcACBP1	XP_012070513.1	92	-	10,30	5,53	Citoplasma (73,5%)	-0.589
JcACBP2	XP_012089029.1	673	-	73,71	5,14	Citoplasma (64,5%)	-0.463
JcACBP3	XP_012079368.1	274	-	31,45	4,91	Reticulo endoplasmático (68,2%)	-0.463
JcACBP4	XP_037493603.1	387	-	42,41	4,43	Reticulo endoplasmático (75%)	-0.582

De acordo com a literatura, as ACBPs da Classe I em plantas geralmente apresentam cerca de 92 resíduos de aminoácidos e peso molecular próximo de 10 kDa, enquanto as da Classe IV possuem aproximadamente 650 resíduos e 73 kDa. As ACBPs da Classe III costumam apresentar 362 resíduos e peso molecular de aproximadamente 39,3 kDa (Raboanatahiry et al., 2018). No presente estudo, as JcACBPs seguiram, em sua maioria, esse padrão de distribuição, com exceção da JcACBP3, classificada como Classe III, que apresentou um peso molecular inferior ao descrito para os membros dessa classe, configurando uma possível característica específica dessa proteína em *J. curcas*.

A predição de peptídeo sinal, importante para o endereçamento de proteínas recém-sintetizadas à via secretora e organelas como o retículo endoplasmático, revelou ausência dessa sequência nas quatro JcACBPs analisadas. Essa ausência contrasta com achados como os de Amiruddin et al. (2020), que identificaram peptídeo sinal em EgACBPs da Classe III em *Elaeis guineensis*, indicando que, embora conservadas, essas características podem apresentar variações específicas entre espécies.

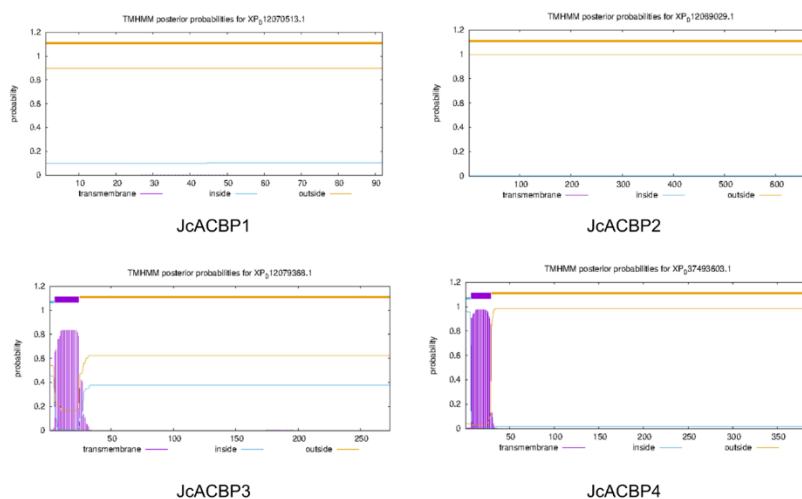
A predição da localização subcelular das JcACBPs encontrada se assemelha ao descrito para *A. thaliana*, onde as ACBPs exibem distribuição variada: na membrana plasmática e no retículo endoplasmático (AtACBP1 e AtACBP2 – Classe II), apoplasto (AtACBP3 – Classe III) e citosol (AtACBP4 e AtACBP6 – Classes IV e I, respectivamente) (Lung & Chye, 2016).

A localização predita para as isoformas JcACBP3 e JcACBP4 no RE sugere seu possível envolvimento em processos de síntese e transporte de fosfolipídios, como já relatado por Zhu et al. (2021) em *Zea mays*. De forma semelhante, Azlan et al. (2021) também identificaram membros da Classe III localizados no RE em *Glycine max*, reforçando a hipótese de um padrão conservado de localização e função para ACBPs desta classe em diferentes espécies vegetais.

#### 4.6 Domínios transmembranares

A presença de domínios transmembranares preditos na região N-terminal das proteínas JcACBP3 e JcACBP4 parece ser uma característica conservada entre as ACBPs da Classe III em plantas (Figura 6). Essa estrutura já foi descrita em *A. thaliana*, com AtACBP3 contendo domínio transmembranar semelhante (Leung et al., 2006), bem como em *Oryza sativa* (OsACBP5; Meng & Chye, 2014), *Glycine max* (Azlan et al., 2021) e *Elaeis guineensis* (Amiruddin et al., 2020).

**Figura 6** Presença de regiões transmembrana nas JcACBPs. Picos na cor violeta indicam a presença de domínios transmembrana.



Tais domínios são essenciais para o direcionamento dessas isoformas para membranas intracelulares, em especial para a membrana plasmática e para a ancoragem no retículo endoplasmático (RE), onde desempenham papéis no transporte e na regulação de acil-CoAs associados às membranas (Leung et al., 2006; Meng & Chye, 2014). Essa ancoragem possibilita que as ACBPs Classe III

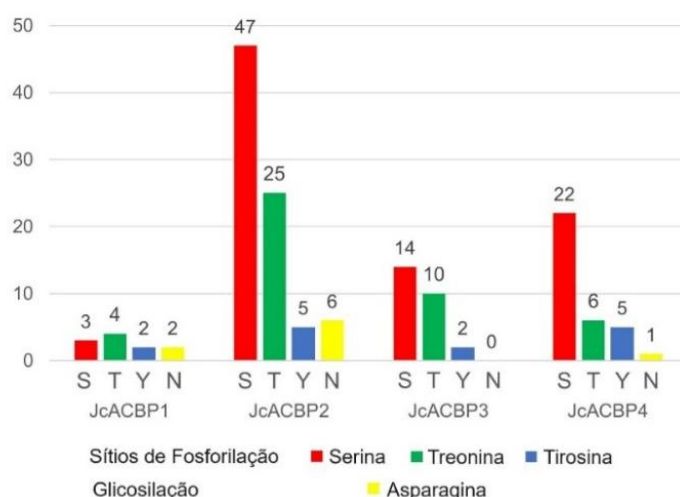
atuem na interface membrana-citosol, o que é fundamental para processos como o tráfego de lipídios e a sinalização lipídica intracelular.

A confirmação desses domínios em JcACBP3 e JcACBP4 reforça a hipótese de conservação estrutural e funcional desse grupo de proteínas em diferentes espécies vegetais, o que justifica sua associação com membranas e retículo endoplasmático, como previamente proposto em outras plantas modelo e de interesse agrônômico.

#### 4.7 Modificações Pós traducionais (MPTs)

As modificações pós-traducionais (MPTs) desempenham papel essencial na regulação funcional das proteínas, influenciando desde sua atividade catalítica até o transporte intracelular e estabilidade (Friso and Van, 2015; Vu; Gevaert; De Smet, 2018). Neste estudo, foram preditos sítios de fosforilação e glicosilação nas proteínas JcACBPs, visando compreender potenciais mecanismos regulatórios associados a essa família em *J. curcas*. Os resultados obtidos revelaram um número expressivo de sítios de fosforilação em todas as proteínas analisadas, variando de 9 a 77, enquanto os sítios de glicosilação variaram de 1 a 6, com exceção da JcACBP3, que não apresentou predições para essa modificação (Figura 7).

**Figura 7.** Sítios de fosforilação e glicosilação em JcACBPs. S: serina; T: treonina; Y: tirosina; N: asparagina.



A ampla predição de sítios de fosforilação nas JcACBPs é consistente com o que é descrito na literatura, onde a fosforilação é reconhecida como uma das MPTs mais frequentes e funcionais em eucariotos, incluindo plantas (Friso & Van Wijk,

2015). Segundo Kermode (1996), essa modificação é fundamental para modular a atividade, a localização subcelular e a interação das proteínas com seus parceiros funcionais, além de participar ativamente no tráfego intracelular. No caso específico das ACBPs, a revisão de GUO et al. (2019b) e dados apresentados por Zhu et al. (2021) reforçam a importância de mecanismos de regulação pós-traducional na atividade dessas proteínas, embora relatos experimentais de fosforilação sejam ainda escassos para esta família.

Em *A. thaliana*, a identificação de um sítio de fosforilação funcional em AtACBP4 (Ser638) associada à resposta a estresse por submersão (Du et al., 2016), em JcACBP2 esse resíduo de Serina aparece na posição 641. Tais dados sustentam a relevância dessa modificação para o ajuste da função das ACBPs frente a condições ambientais adversas. Assim, a elevada quantidade de sítios preditos neste estudo sugere um potencial de regulação fina por fosforilação, possivelmente relacionado ao transporte de acil-CoAs e à integração dessas proteínas em vias de sinalização lipídica e de estresse.

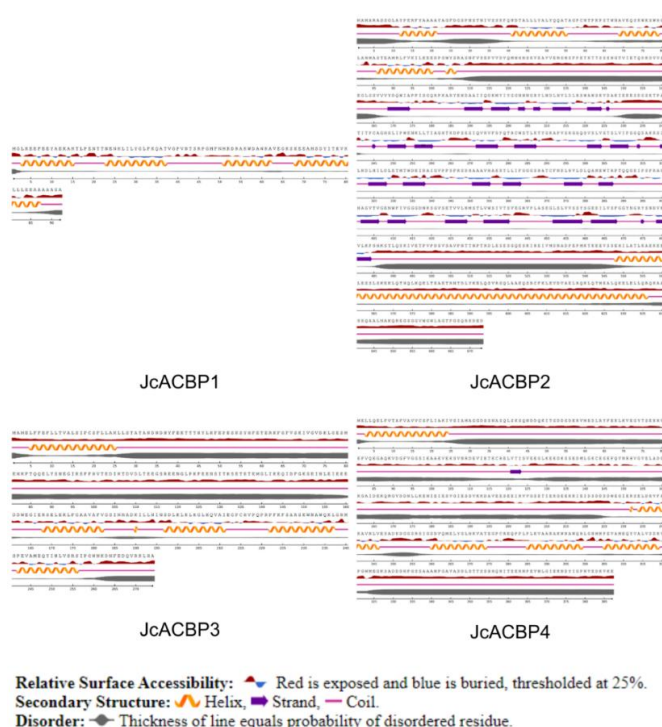
Em relação a glicosilação, a predição de sítios em todas as proteínas, exceto JcACBP3, também se alinha com o que é proposto por Friso & Van Wijk (2015), que destacam essa modificação como crucial para estabilidade, transporte e reconhecimento molecular, sobretudo em proteínas secretadas ou associadas à membrana. Considerando que algumas isoformas de ACBPs são secretadas ou localizadas em compartimentos subcelulares específicos (DU et al., 2016), a presença ou ausência de glicosilação pode impactar diretamente no seu tráfego intracelular e estabilidade, influenciando sua função biológica.

Embora a JcACBP3 esteja associada à membrana, a ausência de sítios preditos de glicosilação nessa isoforma sugere que sua regulação pós-traducional pode diferir das demais JcACBPs. Uma vez que, nem todas as proteínas de membrana necessitam dessa modificação, especialmente aquelas que se associam à membrana por domínios transmembranares ou interações hidrofóbicas internas, onde a glicosilação pode ser dispensável (Gupta & Brunak, 2002). Esse aspecto destaca a importância de investigar experimentalmente os mecanismos específico de modificação pós-traducional e função da JcACBP3, especialmente em relação ao seu papel no transporte de acil-CoAs e sinalização lipídica.

#### **4.8 Estruturas secundárias das JcACBPs**

Por meio da predição das estruturas secundárias das proteínas JcACBPs, realizada no servidor NetSurfP 3.0, observou-se uma predominância de regiões compostas por estruturas do tipo alfa-hélice. A proteína JcACBP1 apresenta quatro alfa-hélices e ausência de regiões desordenadas, ao passo que as demais (JcACBP2, JcACBP3 e JcACBP4) exibem cinco alfa-hélices acompanhadas de uma elevada porcentagem de regiões desordenadas. Destaca-se que a JcACBP2 possui 31 folhas  $\beta$ -pregueadas em sua região central, correspondente aos motivos kelch repetidos, enquanto a JcACBP4 apresenta uma única folha  $\beta$ -pregueada (Figura 8).

**Figura 8.** Estruturas secundárias e regiões de desordem nas JcACBPs. Helix:  $\alpha$ -hélices; Strand: folhas  $\beta$ -pregueadas; Coil: zonas desordenadas.



A análise da estrutura secundária é fundamental para compreender a conformação estrutural das proteínas, que é determinada principalmente pelas ligações de hidrogênio. Estudos prévios com ACBPs em plantas relatam a predominância de random coils, ou regiões desordenadas, e  $\alpha$ -hélices, com variações nas proporções desses elementos conforme a espécie e a classe proteica (Raboanatahiry et al., 2018). As ACBPs das classes 1 e 3 são geralmente constituídas por quatro  $\alpha$ -hélices (Guo et al., 2017; Jin et al., 2020), enquanto as da classe 4 apresentam diversas folhas  $\beta$ -pregueadas, correspondentes aos motivos kelch característicos dessa classe (Raboanatahiry et al., 2018).

Observa-se uma diferença estrutural entre as JcACBPs, particularmente nas proteínas JcACBP3 e JcACBP4, que apresentam maior número de  $\alpha$ -hélices. Tal variação estrutural pode influenciar o modo de ação dessas proteínas, refletindo possíveis diferenças funcionais entre as isoformas.

#### 4.9 Modelagem da estrutura terciária

As proteínas JcACBPs foram modeladas por homologia estrutural utilizando o servidor SWISS-MODEL. A JcACBP1 teve como molde a ACBP de *Oryza sativa* (PDB ID: 5H3G.1), cuja estrutura foi determinada por cristalografia de raios-X. O modelo gerado apresentou parâmetros de qualidade satisfatórios, com GMQE de 0,88 e QMEAN de 0,84, indicando boa confiabilidade. O valor de z-score, -5,22, obtido pelo servidor ProSA, do modelo gerado para a JcACBP1, indica uma posição adequada para o tamanho da estrutura (Tabela 5).

As demais, JcACBP2, JcACBP3 e JcACBP4, foram modeladas com base em estruturas preditas pelo AlphaFold v2. Embora os modelos de JcACBP3 e JcACBP4 tenham apresentado 100% de identidade com estruturas previamente preditas para *J. curcas*, os valores de pLDDT, métrica de precisão por resíduo usada pelo servidor, variaram entre 55 e 77, indicando confiabilidade estrutural baixa a moderada. O fato destas não terem sido resolvidas por meio de estruturas cristalográficas obtidas por raios-X e ressonância magnética, impede a definição do z-score pelo ProSA (Tabela 5).

**Tabela 6:** Parâmetros e avaliações dos modelos tridimensionais das proteínas JcACBP1, JcACBP2, JcACBP3 e JcACBP4 obtidos pelo Swiss-Model.

	Molde (método)	Resíduos (aa)	Identid ade (%)	Simila ridade	Cobertura	GMQE	QMEA N	z- score	Ramachandran (% favorável)
JcACBP1	5h3g.1 (Raios-X)	1-91	86,81	0.57	0.99	0.88	0,84	-5.22	98.88
JcACBP2	A0A6N2KYI5.1.A (AlphaFold v2)	1-673	83.76	0.56	1.00	0.77	-	-	87.18
JcACBP3	A0A067K7E7.1.A (AlphaFold v2)	3-274	100	0.61	0.99	0.59	-	-	84.07
JcACBP4	A0A067KZN3.1.A (AlphaFold v2)	1-387	100	0.61	1.00	0.55	-	-	71.95

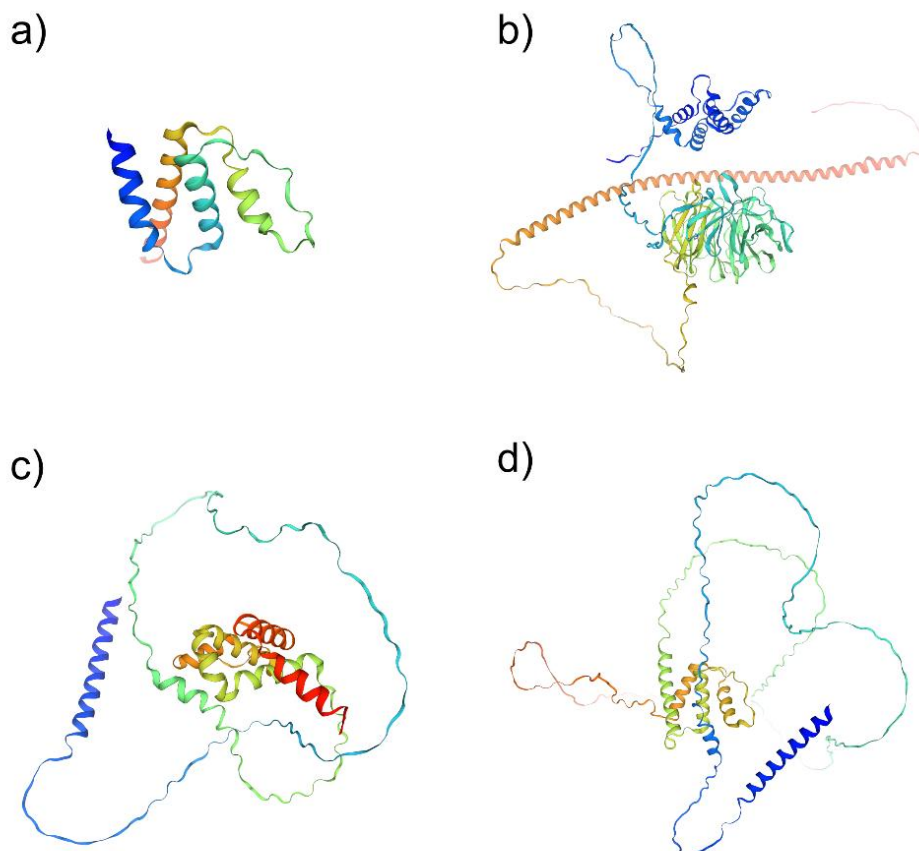
Com base nos modelos preditos, apesar de parte deles não apresentarem alta confiabilidade, sua conformação estrutural está de acordo com o esperado na análise de estrutura secundária e no que é esperado na literatura. Os domínios ACBs foram bem determinados, evidenciando a presença das  $\alpha$ -hélices nas regiões esperadas

para todas as proteínas. Bem como a região formada por motivos kelch, presente na JcACBP2, formada por folhas  $\beta$ -pregueadas (Figura 9).

As predições estruturais das JcACBPs 2, 3 e 4 revelaram elevada propensão à desordem estrutural intrínseca em segmentos específicos das sequências, característica que já havia sido prevista pela análise de estrutura secundária (Figura 8 e 9). A presença desses domínios desordenados pode estar associada à flexibilidade conformacional necessária para a interação com múltiplos parceiros moleculares, além disso, tais regiões tornam-se excelentes alvos para modificações pós-traducionais (Salladini et al., 2020). No entanto, podem representar um desafio para a modelagem estrutural de alta confiabilidade.

Em contraste, a JcACBP1 não apresentou indícios significativos de desordem, reforçando a robustez do modelo obtido com base em estrutura cristalográfica (Figura 8 e 9).

**Figura 9:** Estruturas tridimensionais das proteínas JcACBPs modeladas por homologia no Swiss Model. a) JcACBP1 (classe 1) ; b) JcACBP2 (classe 2); c) JcACBP3 (classe 4); d) JcACBP4 (classe 4).



A qualidade estereoquímica dos modelos tridimensionais das proteínas foi avaliada por meio da análise do gráfico de Ramachandran, utilizando a ferramenta integrada ao Swiss model, permite verificar a conformação dos ângulos diédricos  $\phi$  (phi) e  $\psi$  (psi) de cada resíduo da cadeia polipeptídica (exceto Gly e Pro), destacando regiões favoráveis, permitidas e desfavoráveis com base em parâmetros estereoquímicos (Figura Suplementar 2).

Os resultados mostraram que 98,88% dos resíduos estão localizados em regiões mais favoráveis, para a JcACBP1, indicando boa qualidade conformacional do modelo. Enquanto as JcACBP2, 3 e 4, apresentaram entre 87,18% e 71,95% dos resíduos em regiões favoráveis, indicando moderada a baixa qualidade conformacional do modelo (Tabela 5, Figura Sup. 2).

A predominância de resíduos nas regiões preferenciais, na JcACBP1 sugere que as estruturas propostas apresentam geometria adequada para prosseguimento com análises de interação molecular.

#### **4.10 Ancoragem Molecular**

A ancoragem molecular não foi realizada com as JcACBP2, JcACBP3 e JcACBP4 em razão da baixa confiabilidade estrutural de seus modelos, particularmente nas regiões correspondentes ao sítio de ligação. Tal limitação comprometeria a precisão das predições de interação e a validade das interpretações obtidas por docking molecular.

Diante dessas limitações, as ancoragens moleculares foram conduzidas exclusivamente com a JcACBP1 e seus possíveis ligantes fisiológicos: palmitoil-CoA ( $\Delta G = -6,0$  kcal/mol), oleoil-CoA ( $\Delta G = -5,6$  kcal/mol) e estearoil-CoA ( $\Delta G = -5,5$  kcal/mol). Os valores de energia livre de ligação indicam interações espontâneas e energeticamente favoráveis entre a proteína e os três acil-CoAs avaliados, com destaque para o palmitoil-CoA, que apresentou maior afinidade.

As interações entre a JcACBP1 e os três acil-CoAs foram caracterizadas por meio de representações bidimensionais (Figuras 10: A, C, E) e tridimensionais (Figura 10: B, D, F). Todos os ligantes se acomodaram na mesma cavidade de ligação, estabelecendo contatos com os resíduos pertencentes ao sítio de ligação, incluindo Lys30, Lys34, Lys56, Tyr75, Phe7, Leu27 e Ala55 (numeração para *O.sativa* e conservada em JcACBP1) (Raboanatahiry et al., 2018).



Os resultados de ancoragem molecular obtidos para a JcACBP1 revelaram interações consistentes com os três acil-CoAs avaliados. Mesmo diante de pequenas variações nos valores de energia livre de ligação ( $\Delta G$ ), todos os ligantes se acomodaram na mesma cavidade da proteína, estabelecendo contatos com resíduos conservados, principalmente lisinas e aminoácidos hidrofóbicos. Essa similaridade no padrão de interação sugere que a JcACBP1 não demonstra preferência marcante por um ácido graxo específico, o que pode indicar uma possível atuação versátil no transporte de diferentes acil-CoAs.

Essa hipótese é reforçada pelo perfil de expressão aparentemente constitutivo da JcACBP1 (Figura 4), o qual sugere uma função mais generalista na dinâmica lipídica celular. Nesse contexto, a proteína pode atuar de forma contínua no tráfego intracelular e na manutenção da homeostase de acil-CoAs, especialmente nas sementes de *J. curcas*, onde esses ligantes estão entre os principais constituintes lipídicos.

Diferente dos resultados de Xiao et al. (2009), que mostram que as ACBPs (ACBP4 e ACBP5) de *A. thaliana* possuem uma maior afinidade com o Oleoil-CoA, o JcACBP1 teve melhor interação com o Palmitoil-CoA. Entretanto, tais AtACBPs são pertencentes a outra classe de ACBP, o que pode influenciar na afinidade por determinados ácidos graxos.

#### 4.11 Interação Proteína-Proteína

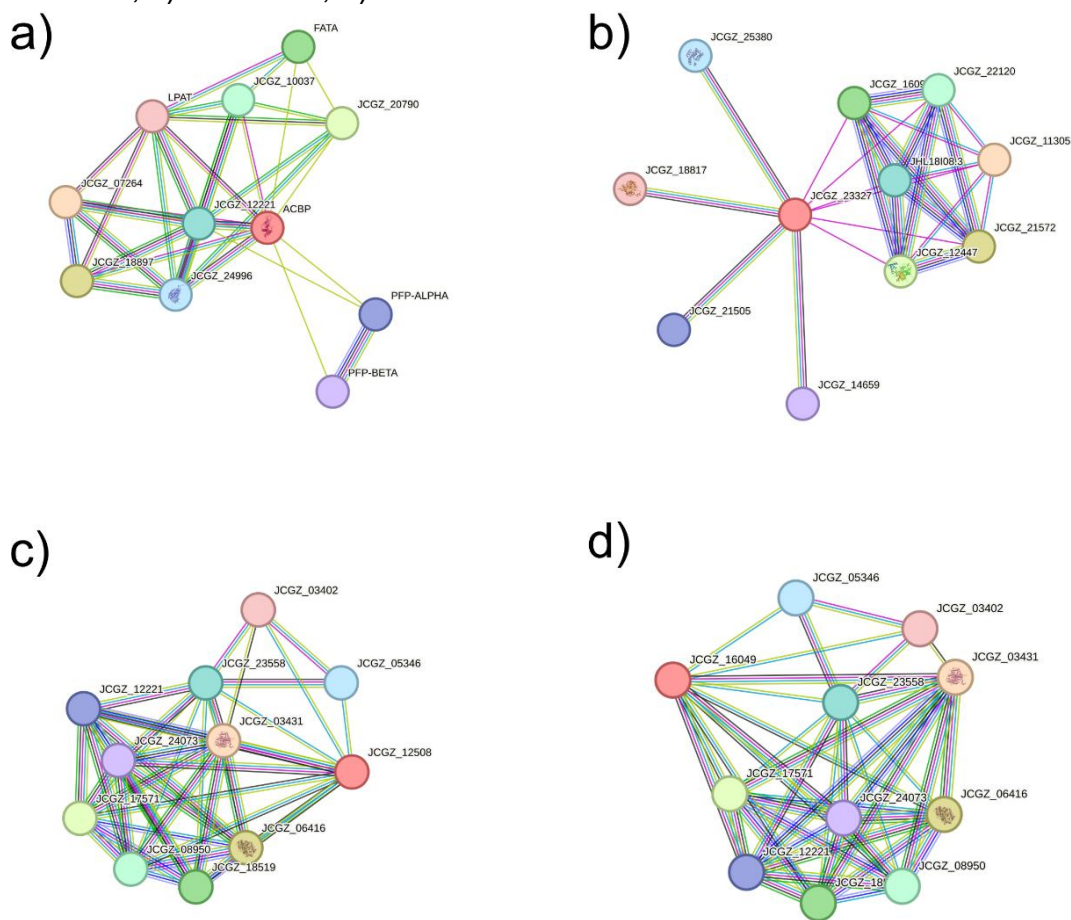
As interações proteína-proteína (PPI) das JcACBPs foram analisadas utilizando o banco de dados STRING, revelando redes funcionais associadas a processos celulares essenciais, especialmente no metabolismo lipídico, incluindo a  $\beta$ -oxidação, e no transporte intracelular (Figura 11; Figura 12).

A JcACBP1 apresentou interações relevantes com proteínas envolvidas nas vias de beta-oxidação e metabolismo de lipídeos, incluindo acil-CoA oxidase 4 peroxissomal (JCGZ\_24996), proteínas multifuncionais de oxidação de ácidos graxos glioissomal (JCGZ\_18897) e peroxissomal (JCGZ\_07264), além da subunidade beta da pirofosfato-frutose-6-fosfato 1-fosfotransferase (PFP-BETA). Essas interações indicam participação ativa em processos de síntese e degradação de lipídios e de manutenção do metabolismo energético (Figuras 11 e 12; Tabela 6).

Já a JcACBP2, embora apresente uma cadeia de interação de extensão semelhante à da JcACBP1, mostrou conexões restritas a processos relacionados à

estrutura anatômica celular e organização citoplasmática. Suas interações envolveram proteinases de cisteína induzidas por baixa temperatura (JCGZ\_21572, JCGZ\_16099) e proteínas de ligação a GTP semelhantes a RHO1 e RAC13 (JCGZ\_25380, JCGZ\_21505), sugerindo possível atuação em processos de transporte intracelular e manutenção estrutural (Figura 11; Tabela 6).

**Figura 11.** Redes de interação proteína-proteína (PPI) previstas para as proteínas JcACBPs de *Jatropha curcas*, obtidas por meio da plataforma STRING. a) JcACBP1; b) JcACBP2; c) JcACBP3; d) JcACBP4.

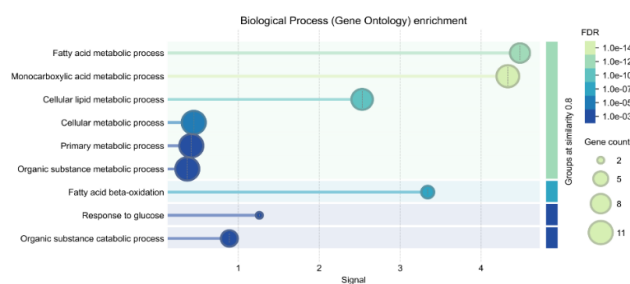


As JcACBP3 e JcACBP4 apresentaram padrões de interação idênticos, possivelmente em função da elevada similaridade de sequência (36,6%), da presença de domínios transmembrana e de estruturas secundárias semelhantes. Ambas interagiram com proteínas associadas ao metabolismo de ácidos graxos, à ligação de lipídeos e à importação e transporte de proteínas de membrana peroxissomal, como a 3-cetoacil-CoA tiolase 2 peroxissomal (JCGZ\_06416, JCGZ\_17571), proteínas da biogênese do peroxissomo (JCGZ\_23558, JCGZ\_05346, JCGZ\_03402) e acil-CoA oxidase 1 peroxissomal (JCGZ\_03431).

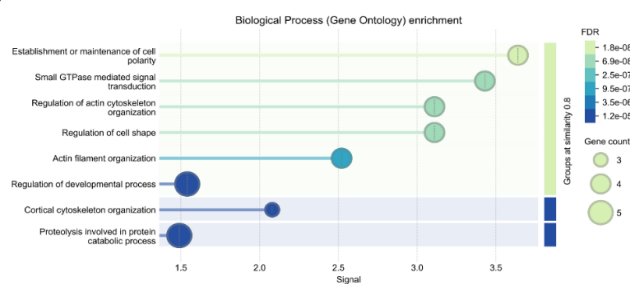
Esses achados reforçam a participação dessas ACBPs nas vias de beta-oxidação e na regulação do metabolismo lipídico em *J. curcas* (Figura 12; Tabela Sup. 2).

**Figura 12.:** Processos biológicos significativamente enriquecidos nas redes de interação proteína-proteína (PPI) preditas para as proteínas JcACBPs de *J. curcas*, identificados pela plataforma STRING. Os processos indicam a participação das JcACBPs em vias metabólicas relacionadas ao metabolismo lipídico, beta-oxidação de ácidos graxos, transporte intracelular e organização estrutural celular. a) JcACBP1; b) JcACBP2; c) JcACBP3; d) JcACBP4.

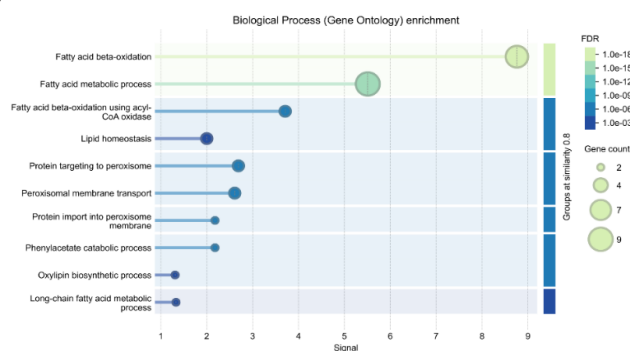
a)



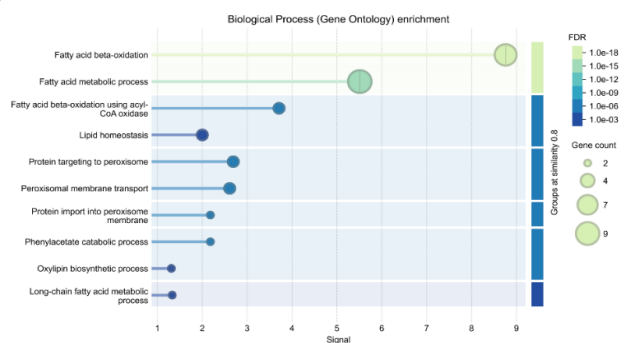
b)



c)



d)



Em suma, a análise das redes de interação das JcACBPs evidencia um papel multifacetado dessas proteínas no metabolismo lipídico e na dinâmica celular de *J. curcas*. Enquanto JcACBP1 demonstra uma ampla participação em vias metabólicas de ácido graxo, relacionadas à beta-oxidação e manutenção energética, JcACBP2 parece atuar mais especificamente em processos estruturais e de transporte intracelular. Por sua vez, JcACBP3 e JcACBP4, devido à sua similaridade estrutural, compartilham funções associadas à importação e regulação de proteínas peroxissomais, assim como, a  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos, corroborando sua importância na regulação do metabolismo de lipídeos. Esses resultados fornecem bases importantes para futuras investigações funcionais que esclareçam os mecanismos moleculares subjacentes à atuação dessas proteínas em *J. curcas*.

As interações identificadas para as JcACBPs com proteínas envolvidas na beta-oxidação e no metabolismo de lipídios em *J. curcas*, como a acil-CoA oxidase e a 3-cetoacil-CoA tiolase, podem ser relacionadas à capacidade conhecida das ACBPs de mediar o transporte intercompartimental de acil-CoAs. De acordo com Rasmussen et al. (1994), ACBPs não apenas carregam esteres de acil-CoA, mas também doam esses intermediários para processos metabólicos essenciais, como a beta-oxidação e a síntese de glicerolipídios. Essa propriedade funcional sugere que as JcACBPs atuem de maneira semelhante em *J. curcas*, direcionando substratos lipídicos para as enzimas peroxissomais envolvidas na degradação de ácidos graxos e na biossíntese de lipídios sinalizadores.

## 5. CONCLUSÕES

Foram identificados quatro genes da família ACBPs no genoma de *J. curcas*, pertencentes às classes I, III e IV, com tamanho variando entre 1975 e 8449 pb. A análise *in silico* das regiões promotoras revelou elementos cis-regulatórios associados à regulação da expressão gênica em resposta a estímulos ambientais e hormonais, enquanto dados de RNA-Seq demonstraram expressão desses genes em múltiplos tecidos, com destaque para JcACBP1.

A amplificação por PCR convencional confirmou a presença dos genes JcACBP1, JcACBP3 e JcACBP4 em alguns genótipos, exceto nos genótipos UFRB5 e UFRB14, nos quais não foi detectada amplificação. Notavelmente, esses genótipos apresentaram os maiores teores de óleo nas sementes, sugerindo uma possível relação inversa entre a presença dessas isoformas e o acúmulo lipídico.

Este achado, apesar de intrigante, corrobora as interações proteína-proteína preditas para as JcACBPs, que indicam o envolvimento de JcACBP1, JcACBP3 e JcACBP4 em vias metabólicas relacionadas à beta-oxidação peroxissomal e ao metabolismo lipídico. O que pode indicar que a ausência ou redução da expressão desses genes poderia reduzir o direcionamento de acil-CoAs para a beta-oxidação, promovendo maior disponibilidade desses substratos para a biossíntese e o armazenamento de triacilgliceróis, refletindo-se no aumento do teor de óleo nos genótipos mencionados.

As características estruturais e a predição de modificações pós-traducionais das proteínas JcACBPs reforçam seu papel multifuncional no metabolismo lipídico e na adaptação fisiológica em *J. curcas*. A JcACBP1 apresentou interações estáveis com todos os acil-CoAs testados, destacando-se o palmitoil-CoA pela maior afinidade. O padrão semelhante entre os ligantes sugere uma atuação versátil da proteína no transporte de diferentes acil-CoAs.

Esses resultados fornecem uma base sólida para investigações funcionais futuras que visem elucidar os mecanismos moleculares pelos quais as JcACBPs regulam o metabolismo lipídico, com potencial aplicação em programas de melhoramento genético para aumento da produção de óleo em oleaginosas tropicais.

## 6. REFERÊNCIAS

ABDELGADIR H. A.; VAN STADEN, J. Ethnobotany, ethnopharmacology and toxicity of *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae): a review. **South African Journal of Botany**, v. 88, p. 204-218, 2013.

ABOBATTA, W. F. *Jatropha curcas*: an overview. **Journal of Advances in Agriculture**, v. 10, 2019. DOI: <https://doi.org/10.24297/jaa.v10i0.8145>

ACHTEN, W. M. J.; MAES, W. H.; AERTS, R.; VERCHOT, L.; TRABUCCO, A.; MATHIJS, E.; SINGH, V. P.; MUYS, B. *Jatropha*: From global hype to local opportunity. **Journal of Arid Environments**, v. 74, p. 164–165, 2009. DOI: [10.1016/j.jaridenv.2009.08.010](https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2009.08.010).

AGRAWAL, A.; JAIN, S. D.; GUPTA, A. K. Effectiveness of *Jatropha curcas* as Biodiesel and Antiviral: A Review. **International Journal of Newgen Research in Pharmacy & Healthcare**, v. 1, n. 2, p. 32–41. 2023. DOI: 10.61554/ijnrph.v1i2.2023.46

ALMEIDA, A.Q.; SILVA, S.A.; ALMEIDA, V.O.; SOUZA, D.R.; ARAÚJO, G.M. Genetic divergence and morpho-agronomic performance of *Jatropha curcas* L. clones for selection of clonal varieties. **Revista Caatinga**, v. 29, p. 841-849, 2016. DOI: 10.1590/1983-21252016v29n408rc

AMIRUDDIN, N.; CHAN, P.-L.; AZIZI, N.; MORRIS, P. E.; CHAN, K.-L.; ONG, P. W.; et al. Characterization of oil palm acyl-CoA-binding proteins and correlation of their gene expression with oil synthesis. **Plant Cell Physiology**, v. 61, p. 735–747, 2020. DOI: 10.1093/pcp/pcz237

ARMENTEROS, J.J.A.; SONDERBY, C.K.; SONDERBY, S.K.; NIELSEN, H.; WINTHER, O. DeepLoc: prediction of protein subcellular localization using deep learning. **Bioinformatics**, v. 33, p. 3387–3395, 2017.

AROCKIASAMY, S.; KUMPATLA, J.; HADOLE, S.; YEPURI, V.; PATIL, M.; SHRIVASTAVA, V.; RAO, C.; KANCHARLA, N.; JALALI, S.; VARSHNEY, A.; MADAN, N.; POTHAKANI, S.; NAIR, V.; PEYYALA, S.; MUDUNURI, V.; GOPAL, A.; KUMAR, N. S.; PACHIYANNAN, J.; SEELAMANTHULA, S.; NARASIMHAM, J. V.; DASGUPTA, S. Breeding and biotechnological efforts in *Jatropha curcas* L. for sustainable yields. **Oil Crop Science**, v. 6, n. 4, p. 180–191, 2021. DOI: 10.1016/j.ocsci.2021.10.004.

ARRUDA, F.P.; BELTRÃO, N.E.M.; ANDRADE, A.P.; PEREIRA, W.E.; SEVERINO, L.S. Cultivo de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o cenário nordestino. **Revista Brasileira de engenharia agrícola e ambiental**, v. 8, p.789-799, 2004.

AZLAN, N. S.; GUO, Z. H.; YUNG, W. S.; WANG, Z.; LAM, H. M.; LUNG, S. C.; CHYE, M. L. *In silico* analysis of Acyl-CoA-Binding Protein expression in soybean. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 646938, 2021. DOI: [10.3389/fpls.2021.646938](https://doi.org/10.3389/fpls.2021.646938).

AZNAR-MORENO, J. A.; VENEGAS-CALERÓN, M.; DU, Z.-Y.; GARCÉS, R.; TANNER, J. A.; CHYE, M.-L.; MARTÍNEZ-FORCE, E.; SALAS, J. J. Characterization and function of a sunflower (*Helianthus annuus* L.) Class II acyl-CoA-binding protein. **Plant Science**, v. 300, p. 110630, 2020. DOI: [10.1016/j.plantsci.2020.110630](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110630)

BAKHTIARIZADEH, M. R.; NAJAF-PANAH, M. J.; MOUSAPOUR, H.; SALAMI, S. A. Versatility of different melting temperature (T<sub>m</sub>) calculator software for robust PCR and real-time PCR oligonucleotide design: A practical guide, **Gene Reports**, v. 2, p. 1-3, 2016. DOI: [10.1016/j.genrep.2015.11.001](https://doi.org/10.1016/j.genrep.2015.11.001)

BATES, P. D.; STYMNE, S. & OHLROGGE, J. Biochemical pathways in seed oil synthesis. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 16, p. 358–364, 2013. DOI: 10.1016/j.pbi.2013.02.015

BHAT, G. R.; SETHI, I.; RAH, B.; KUMAR, R.; AFROZE, D. Innovative *in silico* approaches for characterization of genes and proteins. **Frontiers in Genetics**, v. 13, p. 865182, 2022. DOI: 10.3389/fgene.2022.865182

BLOM, N.; GAMMELTOFT, S.; BRUNAK, S.; Sequence and structure-based prediction of eukaryotic protein phosphorylation sites. **Journal of Molecular Biology**, v. 294, p. 1351-1362, 1999.

BONILLA, J. L. S.; VALENCIA, B. B. M.; LÓPEZ-GUILLÉN, G.; COLMENERO, A. Z. Genetic Resources and Advances in the Development of New Varieties of *Jatropha curcas* L. in México. p. 29-44. In: Mulpuri, S., Carels, N., Bahadur, B. (eds) *Jatropha, Challenges for a New Energy Crop*. Springer, Singapore, 2019.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 4 de 14 de janeiro de 2008**. Diário Oficial da União, p.4, 2008.

BRASILEIRO, B.P.; SILVA, S.A.; SOUZA, D.R.; SANTOS, P.A.; OLIVEIRA, R.S.; LYRA, D.H. Genetic diversity and selection gain in the physic nut (*Jatropha curcas*). **Genetics and Molecular Research**. v.3, p. 2341-2350, 2013. DOI: 10.4238/2013.january.4.12

BURTON, M.; ROSE, T.M.; FAERGEMAN, N.J.; KNUDSEN, J. Evolution of the acyl-CoA binding protein (ACBP). **Biochemical Journal**, v. 392. p. 299-307, 2005. DOI: [10.1042/BJ20050664](https://doi.org/10.1042/BJ20050664)

CALIXTO, P.H.M. Aspectos gerais sobre a modelagem comparativa de proteínas. **Ciência Equatorial**. v. 3, p. 1-8, 2013.

CARVALHO, C. R.; CLARINDO, W. R.; PRAÇA, M. M.; ARAÚJO, F. S.; CARELS, N. Genome size, base composition and karyotype of *Jatropha curcas* L., an important biofuel plant. **Plant Science**, v. 174, n. 6, p. 613–617, 2008. DOI: [10.1016/j.plantsci.2008.03.010](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.03.010)

CARVALHO, C. V.; RICCI, G.; AFFONSO, R. (Orgs.). **Guia de práticas em biologia molecular**. 2. ed. atual. e ampl. São Caetano do Sul: Yendis, 2014. v. 1, 443 p.

CARVALHO, D.S. **Comportamento genético de progênies de meio-irmãos de pinhão manso no recôncavo baiano, Brasil**. 2010. 51f. (Mestrado em Ciências Agrárias) Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2010.

CHANG, H.; MA, M.; GU, M.; LI, S.; LI, M.; GUO, G.; XING, G. Acyl-CoA-binding protein (ACBP) genes involvement in response to abiotic stress and exogenous hormone application in barley (*Hordeum vulgare* L.). **BMC Plant Biology**, v. 24, n. 236, p. 1–21, 2024. DOI: [10.1186/s12870-024-04944-6](https://doi.org/10.1186/s12870-024-04944-6).

CHANG, Y.; XU, X.; ZHENG, H.; XIE, H.; LI, B.; CHEN, S.; LI, Y.; DAI, S. Genome-wide identification and characterization of ACBP gene family in *Populus* reveal salinity alkali-responsive profiles. **Journal of Forestry Research**, v. 34, p. 481–496, 2023. DOI: [10.1007/s11676-022-01485-2](https://doi.org/10.1007/s11676-022-01485-2)

CHANGMAI, B.; VANLALVENI, C.; INGLE, A. P.; BHAGAT, R.; ROKHUM, S. L. Widely used catalysts in biodiesel production: a review. **Royal Society of Chemistry Advances**, v. 10, p. 41625–41679, 2020. DOI: [10.1039/D0RA07931F](https://doi.org/10.1039/D0RA07931F)

CHAPMAN, K.D. & OHLROGGE, J.B. Compartmentation of triacylglycerol accumulation in plants. **Journal of Biological Chemistry**, v. 287, p. 2288–2294, 2012. DOI: [10.1074/jbc.R111.290072](https://doi.org/10.1074/jbc.R111.290072)

CHAUHAN, B. S.; KUMAR, N.; DU JUN, Y.; LEE, K. B. Performance and emission study of preheated *Jatropha* oil on medium capacity diesel engine. **Energy (Oxf)** v. 35, n. 6, p. 2484–92, 2010. DOI: [10.1016/j.energy.2010.02.043](https://doi.org/10.1016/j.energy.2010.02.043)

CHAVALI, S.; MAHAJAN, A.; TABASSUM, R.; MAITI, S.; BHARADWAJ, D. Oligonucleotide properties determination and primer designing: a critical examination of predictions. **Bioinformatics**, Oxford, v. 21, p. 3918–3925, 2005. DOI: [10.1093/bioinformatics/bti633](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti633)

CHEN, Q. F.; XIAO, S.; CHYE, M. L. Overexpression of the Arabidopsis 10-kilodalton acyl-Coenzyme A-binding protein ACBP6 enhances freezing tolerance. **Plant Physiology**, v. 148, p. 304–315, 2008. DOI: [10.1104/pp.108.123331](https://doi.org/10.1104/pp.108.123331)

CHEN, Y.; FU, M.; LI, H.; WANG, L.; LIU, R.; LIU, Z. Molecular Characterization of the Acyl-CoA-Binding Protein Genes Reveals Their Significant Roles in Oil Accumulation and Abiotic Stress Response in Cotton. **Genes**, v. 14, n. 4, p. 859, 2023. DOI: [10.3390/genes14040859](https://doi.org/10.3390/genes14040859).

CHOTHIA, C., & LESK, A. M. The relation between the divergence of sequence and structure in proteins. **The EMBO journal**, v. 5, p. 823–826, 1986. DOI: [10.1002/j.1460-2075.1986.tb04288.x](https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1986.tb04288.x)

DONG, Z. G.; LIU, H.; WANG, X. L.; TANG, J.; ZHU, K. K.; WU, Y. H.; CHEN, X. L.; TANG, X. P.; CHENG, Z. M. Evolution of Acyl-CoA-binding protein gene family in plants provides insights into potential functions of grapevine (*Vitis vinifera* L.). **Journal of Berry Research**, v. 10, n. 4, p. 1–17, 2020. DOI: [10.3233/JBR-200528](https://doi.org/10.3233/JBR-200528).

DU, Z.; ARIAS, T.; MENG, W.; CHYE, L. Plant acyl-CoA-binding proteins: An emerging family involved in plant development and stress responses. **Progress in Lipid Research**, v. 63, p. 165–181, 2016. DOI: [10.1016/j.plipres.2016.06.002](https://doi.org/10.1016/j.plipres.2016.06.002)

DU, Z.Y.; CHYE, M.L. Interactions between Arabidopsis acyl-CoA-binding proteins and their protein partners. **Planta**, v. 238, p. 239–245, 2013. DOI: 10.1007/s00425-013-1904-2

DURÃES, F. O. M., LAVIOLA, B. G., & ALVES, A. A. Potential and challenges in making physic nut (*Jatropha curcas* L.) a viable biofuel crop: the Brazilian perspective. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 6, p. 43-60. 2011. DOI: 10.1079/PAVSNNR20116043

DURÃES, F.O.M, LAVIOLA, B.G., SUNDFELD, E., MENDONÇA, M., BHERING, L.L. Pesquisa, desenvolvimento e inovação em pinhão manso para produção de biocombustíveis – Brasília, DF: **Embrapa Agroenergia**, v. 17 p. 2177-4439; 2009.

EWUNIE, G. A.; MORKEN, J.; LEKANG, O. I.; YIGEZU, Z. D. Factors affecting the potential of *Jatropha curcas* for sustainable biodiesel production: A critical review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 137, p. 110500, 2021. DOI: 10.1016/j.rser.2020.110500

FARIAS, L.F. **Biologia floral, reprodutiva, visitantes florais e desempenho morfoagrônomo de *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae)**. 2018. 94f. (Mestrado em Ciências Agrárias) Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2018.

FOKOUÉ, H. H.; PINHEIRO, P. S. M.; FRAGA, C. A. M.; SANT'ANNA, C. M. R. Há algo novo no reconhecimento molecular aplicado à química medicinal? **Química Nova**, v. 43, n. 1, p. 78–89, 2020. DOI: 10.21577/0100-4042.20170474.

FREITAS, R.; MISSIO, R.; MATOS, F.; RESENDE, L.; DIAS, L. Genetic evaluation of *Jatropha curcas*: an important oilseed for biodiesel production. **Genetics and Molecular Research**, v.10, p. 1490-1498, 2011. DOI: 10.4238/vol10-3gmr1146

FRISO, G.; VAN WIJK, K. J. Posttranslational protein modifications in plant metabolism. **Plant Physiology**, v. 169, n. 3, p. 1469–1487, nov. 2015. DOI: 10.1104/pp.15.01378.

GREEN, M. R.; SAMBROOK, J. Polymerase Chain Reaction. **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 2019, n. 6, p. pdb.top095109, jun. 2019. DOI: [10.1101/pdb.top095109](https://doi.org/10.1101/pdb.top095109)

GUO, Z. H.; CHAN, W. H. Y.; KONG, G. K. W.; HAO, Q.; CHYE, M. L. The first plant acyl-CoA-binding protein structures: the close homologues OsACBP1 and OsACBP2 from rice. **Acta Crystallographica Section D Structural Biology**, v. 73, p. 438–448, 2017. DOI: 10.1107/s2059798317004193

GUO, Z. H.; HASLAM, R. P.; MICHAELSON, L. V.; YEUNG, E. C.; LUNG, S. C.; NAPIER, J. A.; CHYE, M. L. The overexpression of rice ACYL-CoA-BINDING PROTEIN2 increases grain size and bran oil content in transgenic rice. **The Plant Journal**, v. 100, p. 1132-1147, 2019. DOI: 10.1111/tpj.14503

GUO, Z. H.; POGANCEV, G.; MENG, W.; DU, Z. Y.; LIAO, P.; ZHANG, R.; CHYE, M. L. The overexpression of rice ACYL-COA-BINDING PROTEIN4 improves salinity tolerance in transgenic rice. **Environmental and Experimental Botany**, v. 183, p. 104349, 2021. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2020.104349.

GUO, Z.-H.; YE, Z.-W.; HASLAM, R. P.; MICHAELSON, L. V.; NAPIER, J. A.; CHYE, M.-L. Arabidopsis cytosolic acyl-CoA-binding proteins function in determining seed oil composition. **Plant Direct**, v. 3, n. 12, 2019b. DOI: 10.1002/pld3.182

GUPTA, R. & BRUNAK, S. Prediction of glycosylation across the human proteome and the correlation to protein function. **Pac Symp Biocomput.**, p. 310-22, 2002. DOI: 10.1142/9789812799623\_0029

HASLAM, R. P.; SAYANOVA, O.; KIM, H. J.; CAHOON, E. B.; NAPIER, J. A. Synthetic redesign of plant lipid metabolism. **Plant Journal**, v. 87, p. 76-86, 2016. DOI: 10.1111/tbj.13172

HØIE, M.H.; KIEHL, E.N.; PETERSEN, B.; NIELSEN, H.; WINTHER, O.; HALLGREN, J.; MARCATILI, P. NetSurfP-3.0: accurate and fast prediction of protein structural features by protein language models and deep learning. **Nucleic Acid Research**, 2022. DOI: 10.1093/nar/gkac439

HSIAO, A.-S.; HASLAM, R. P.; MICHAELSON, L. V.; LIAO, P.; CHEN, Q.-F.; SOORIYAARACHCHI, S.; MOWBRAY, S. L.; NAPIER, J. A.; TANNER, J. A.; CHYE, M.-L. Arabidopsis cytosolic acyl-CoA-binding proteins ACBP4, ACBP5 and ACBP6 have overlapping but distinct roles in seed development. **Bioscience Reports**, v. 34, n. 6, p. e00165, 2014. DOI:10.1042/bsr20140139

HU, B., JIN, J., GUO, A.-Y., ZHANG, H., LUO, J. & GAO, G. GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server. **Bioinformatics**, v. 31, n. 8, p. 1296-1297, 2015. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu817

HU, T. H.; LUNG, S. C.; YE, Z. W.; CHYE, M. L. Depletion of Arabidopsis Acyl-coa-binding protein 3 affects fatty acid composition in the Phloem. **Front. Plant Sci.** v. 9, n. 2, 2018. DOI: 10.3389/fpls.2018.00002

INNIS, M. A.; GELFAND, D. H.; SNINSKY, J. J. (Ed.). PCR Applications: Protocols for Functional Genomics. San Diego: **Academic Press**, 1999. p. 55.

JIA, H.; GUO, Y.; ZHAO, W.; WANG, K. Long-range PCR in next-generation sequencing: comparison of six enzymes and evaluation on the MiSeq sequencer. **Scientific Reports**, v. 4, art. 5737, 2014. DOI: [10.1038/srep05737](https://doi.org/10.1038/srep05737)

JIN, J.; GUO, Z.-H.; HAO, Q.; CHYE, M.-L. Crystal structure of the rice acyl-CoA-binding protein OsACBP2 in complex with C18:3-CoA reveals a novel pattern of binding to acyl-CoA esters. **FEBS Letters**, v. 594, p. 3568–3575, 2020. DOI: 10.1002/1873-3468.13923

JINFEN, W.; MING, G.; FENG, X.; JINFENG, M.; ZHAOMING, Z.; MINGHUA, D.; QINGYUAN, W.; ZHONGXIAO, Z. Cloning and expression analysis of a new acyl-CoA-binding protein (JcACBP) identified from *Jatropha curcas* L. **Biology, Chemistry, Environmental Science**, 2014. DOI: 10.7606/j.issn.1000-4025.2014.11.2159

KAYAMA, K.; KANNO, M.; CHISAKI, N.; TANAKA, M.; YAO, R.; HANAZONO, K.; CAMER, G. A.; ENDOH, D. Prediction of PCR amplification from primer and template

sequences using recurrent neural network. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, 5 abr. 2021. DOI: [10.1038/s41598-021-86357-1](https://doi.org/10.1038/s41598-021-86357-1)

KERMODE, A. R. Mechanisms of intracellular protein transport and targeting in plant cells. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 15, n. 4, p. 285–423, 1996. DOI: 10.1080/07352689609701943.

KHEHRA, N.; PADDA, I. S.; SWIFT, C. J. **Polymerase Chain Reaction (PCR)**. [Updated 2023 Mar 6]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK589663/>

KIM, H.U. Lipid Metabolism in Plants. **Plants**, v. 9, n. 871, 2020. DOI: [10.3390/plants9070871](https://doi.org/10.3390/plants9070871)

KRISHNAN, P. R.; PARAMATHMA, M. Potentials and *Jatropha* species wealth of India. **Current Science**. v. 97. p. 1000-1004, 2009.

LAI, S. H.; CHYE, M. L. Plant Acyl-CoA-Binding Proteins—Their Lipid and Protein Interactors in Abiotic and Biotic Stresses. **Cells**, v. 10, n. 5, p. 1064, abr. 2021. DOI:10.3390/cells10051064.

LAVIOLA, B. G., SILVA, S. D. A., JUHÁSZ, A. C. P., ROCHA, R. B., OLIVEIRA, R. J. B., ALBRECHT, J. C., ROSADO, T. B. Desempenho agrônômico e ganho genético pela seleção de pinhão manso em três regiões do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, p. 356-363, 2014. DOI: 10.1590/S0100-204X2014000500005

LAVIOLA, B.G.; ROCHA, R.B.; KOBAYASHI, A.K.; ROSADO, T.B.; BHERING, L.L. Genetic improvement of *Jatropha* for biodiesel production. **Ceiba**, v. 51, p. 1-10, 2012. DOI: 10.5377/ceiba.v51i1.640

LAVIOLA, B.G.; RODRIGUES, E.V.; RIBEIRO, L.P.; SILVA, L.A.; DE AZEVEDO PEIXOTO, L.; BHERING, L.L. Strategies in the Genetic Breeding of *Jatropha curcas* for Biofuel Production in Brazil. p. 45-62. In: MULPURI, S.; CARELS, N.; BAHADUR, B. (eds) *Jatropha*, Challenges for a New Energy Crop. Springer, Singapore, 2019. DOI: 10.1007/978-981-13-3104-6\_3

LESCOT, M.; DÉHAIS, P.; THIJS, G.; MARCHAL, K.; MOREAU, Y.; VAN DE PEER, Y.; ROUZÉ, P.; ROMBAUTS, S. PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for *in silico* analysis of promoter sequences. **Nucleic Acids Research**, v. 30, p. 325-327, 2002. DOI: 10.1093/nar/30.1.325

LEUNG, K. C.; LI, H. Y.; MISHRA, G.; CHYE, M. L. ACBP4 and ACBP5, novel Arabidopsis acyl-CoA-binding proteins with kelch motifs that bind oleoyl-CoA. **Plant Molecular Biology**, v. 55, p. 297–309, 2004. DOI: 10.1007/s11103-004-0642-z

LEUNG, K.C.; LI, H.Y.; XIAO, S.; TSE, M.H. CHYE M.L. Arabidopsis ACBP3 is an extracellularly targeted acyl-CoA-binding protein. **Planta**, v. 223, p. 871–881, 2006. DOI: 10.1007/s00425-005-0139-2

LI, H. Y.; CHYE, M. L. Membrane localization of Arabidopsis acyl-CoA binding protein ACBP2. **Plant Molecular Biology**, v. 51, p. 483–492, 2003. DOI: [10.1023/A:1022330304402](https://doi.org/10.1023/A:1022330304402)

LI, H. Y.; XIAO, S.; CHYE, M. L. Ethylene- and pathogen-inducible Arabidopsis acyl-CoA-binding protein 4 interacts with an ethylene-responsive element binding protein. **J. Exp. Bot.** v. 59, p. 3997–4006, 2008. DOI: [10.1093/jxb/ern241](https://doi.org/10.1093/jxb/ern241)

LI, N.; XU, C.; LI-BEISSON, Y.; PHILIPPAR, K. Fatty acid and lipid transport in plant cells. **Trends Plant Science**, v. 21, p. 145-158, 2016. DOI: [10.1016/j.tplants.2015.10.011](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.10.011)

LIAO, P.; WOODFIELD, H. K.; HARWOOD, J. L.; CHYE, M. L.; SCOFIELD, S. Comparative transcriptomics analysis of *Brassica napus* L. during seed maturation reveals dynamic changes in gene expression between embryos and seed coats and distinct expression profiles of acyl-CoA-binding proteins for lipid accumulation. **Plant and Cell Physiology**, v. 60, n. 12, p. 2812–2825, 2019. DOI: [10.1093/pcp/pcz169](https://doi.org/10.1093/pcp/pcz169).

LI-BEISSON, Y.; SHORROSH, B.; BEISSON, F.; ANDERSSON, M.; ARONDEL, V.; BATES, P.D.; BAUD, S.; BIRD, D.; DEBONO, A.; DURRETT, T.P.; FRANKE, R.B.; GRAHAM, I.A.; KATAYAMA, K.; KELLY, A.A.; LARSON, T.; MARKHAM, J.E.; MIQUEL, M.; MOLINA, I.; NISHIDA, I.; ROWLAND, O.; SAMUELS, L.; SCHMID, K.M.; WADA, H.; WELTI, R.; XU, C.; ZALLOT, R.; OHLROGGE, J. Acyl-lipid metabolism. **Arabidopsis Book**, v. 11:e0161, 2013. DOI: [10.1199/tab.0161](https://doi.org/10.1199/tab.0161).

LING, J.; LI, L.; LIN, L.; XIE, H.; ZHENG, Y.; WAN, X. Genome-wide identification of acyl-CoA binding proteins and possible functional prediction in legumes. **Frontiers in Genetics**, v. 13, p. 1–17, 2023. DOI: [10.3389/fgene.2022.1057160](https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1057160).

LIU, Y.; HAN, J.; LI, Z.; JIANG, Z.; LUO, L.; ZHANG, Y.; CHEN, M.; YANG, Y.; LIU, Z. Heterologous Expression of *Jatropha curcas* Fatty Acyl-ACP Thioesterase A (JcFATA) and B (JcFATB) Affects Fatty Acid Accumulation and Promotes Plant Growth and Development in Arabidopsis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 8, p. 4209, 11 abr. 2022. DOI: [10.3390/ijms23084209](https://doi.org/10.3390/ijms23084209)

LORENZ, T. C. Polymerase Chain Reaction: Basic Protocol plus Troubleshooting and Optimization Strategies. **Journal of Visualized Experiments**, v. 63, n. 63, 22 maio 2012. DOI: [10.3791/3998](https://doi.org/10.3791/3998)

LUNG, S. C.; CHYE, M. L. Deciphering the roles of acyl-CoA-binding proteins in plant cells. **Protoplasma**, v. 253, p.1177–1195, 2016. DOI: [10.1007/s00709-015-0882-6](https://doi.org/10.1007/s00709-015-0882-6)

LUNG, S. C.; CHYE, M. L. Arabidopsis acyl-CoA-binding proteins regulate the synthesis of lipid signals. **New Phytologist**, v. 223, n. 1, p. 113–117, 2019. DOI: [10.1111/nph.15707](https://doi.org/10.1111/nph.15707).

MARTIN, M.; BOHLINGER, B.; SENGER, E.; DONGMEZA, E.; ANDRIANIRINA, Z.T.; MONTES, J.M. Genetic Improvement of Edible and Non-edible *Jatropha* for Marginal Environments in Sub-Saharan Africa. p. 3-27. In: Mulpuri, S., Carels, N., Bahadur, B. (eds) *Jatropha, Challenges for a New Energy Crop*. Springer, Singapore, 2019. DOI: [10.1007/978-981-13-3104-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-13-3104-6_1)

MARTINS, C.C.; MACHADO, C.G.; CAVASINI, R., Temperatura e substrato para o teste de germinação de sementes de pinhão manso, **Ciência agrotécnica**, v. 32, n. 3, 2008. DOI:10.1590/S1413-70542008000300024

MASTAN, S.G.; RATHORE, M.S.; KUMARI, S.; MUPPALA, R.P.; KUMAR, N. Genetic Engineering for the Improvement of Oil Content and Associated Traits in *Jatropha curcas* L.. p. 95-110. In: MULPURI, S., CARELS, N., BAHADUR, B. (eds) *Jatropha*, Challenges for a New Energy Crop. Springer, Singapore, 2019. DOI: 10.1007/978-981-13-3104-6\_6

MEAGHER, R. J.; PRIYE, A.; LIGHT, Y. K.; HUANG, C.; WANG, E. Impact of Primer Dimers and Self-Amplifying Hairpins on Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Detection of Viral RNA. **Analyst**, v. 143, n. 8, p. 1924–1933, 2018. DOI: [10.1039/c7an01897e](https://doi.org/10.1039/c7an01897e)

MENG, W.; CHYE, M. Rice acyl-CoA-binding proteins OsACBP4 and OsACBP5 are differentially localized in the endoplasmic reticulum of transgenic Arabidopsis. **Plant Signaling & Behavior**, v. 9, n.8, 2014. DOI: 10.4161/psb.29544

MENG, W.; XU, L.; DU, Z.-Y.; WANG, F.; ZHANG, R.; SONG, X.; LAM, S. M.; SHUI, G.; LI, Y.; CHYE, M.-L. RICE ACYL-COA-BINDING PROTEIN6 affects acyl-CoA homeostasis and growth in rice. **Rice**, v. 13, n. 75, p. 1–16, 2020. DOI: 10.1186/s12284-020-00435-y.

MONTES, J.M.; MELCHINGER, A.E. Domestication and Breeding of *Jatropha curcas* L. **Trends in Plant Science**. v.21, p. 1045-1057, 2016. DOI: 10.1016/j.tplants.2016.08.008

MOULT J, FIDELIS K, KRYSHTAFOVYCH A, TRAMONTANO A. Critical assessment of methods of protein structure prediction (CASP) round IX. **Proteins**, v. 79, p. 1-5, 2011. DOI:10.1002/prot.23200

NARAYANAN, S. P.; LUNG, S. C.; LIAO, P.; LO, C.; CHYE, M. L. The overexpression of OsACBP5 protects transgenic rice against necrotrophic, hemibiotrophic and biotrophic pathogens. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 14918, 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-71851-9

NEUPANE, D.; BHATTARAI, D.; AHMED, Z.; DAS, B.; PANDEY, S.; SOLOMON, J. K. Q.; QIN, R.; ADHIKARI, P. Growing *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.) as a potential second-generation biodiesel feedstock. **Inventions**, v. 6, n. 4, p. 60, 2021. DOI: 10.3390/inventions6040060

NIE, Z.; WANG, Y.; WU, C.; LI, Y.; KANG, G.; QIN, H.; ZENG, R. Acyl-CoA-binding protein family members in laticifers are possibly involved in lipid and latex metabolism of *Hevea brasiliensis* (the Para rubber tree). **BMC Genomics**, v. 19, n. 5, p. 1–14, 2018. DOI: [10.1186/s12864-017-4419-6](https://doi.org/10.1186/s12864-017-4419-6).

OHLROGGE, J.; BROWSE, J. Lipid biosynthesis. **Plant Cell**, v. 7, n. 7, p. 957–970, jul. 1995. DOI: [10.1105/tpc.7.7.957](https://doi.org/10.1105/tpc.7.7.957).

PARAMATHMA, M. & VENKATACHALAM. *Jatropha* improvement, management and production of biodiesel. Centre of excellence in biofuels. **Agricultural Engineering College and Research Institute**, Coimbatore, 2007.

PATRO, R.; DUGGAL, G.; LOVE, M. I.; IRIZARRY, R. A.; KINGSFORD, C. Salmon provides fast and bias-aware quantification of transcript expression. **Nature Methods**, v. 14, n. 4, p. 417–419, 2017. DOI: [10.1038/nmeth.4197](https://doi.org/10.1038/nmeth.4197).

PAYSAN-LAFOSSE, T.; BLUM, M.; CHUGURANSKY, S.; GREGO, T.; PINTO, B.L.; SALAZAR, G.A.; BILESCHI, M.L.; BORK, P.; BRIDGE, A.; COLWELL, L.; GOUGH, J.; HAFT, D.H.; LETUNIĆ, I.; MARCHLER-BAUER, A.; MI, H.; NATALE, D.A.; ORENGO, C.A.; PANDURANGAN, A.P.; RIVOIRE, C.; SIGRIST, C.J.A.; SILLITOE, I.; THANKI, N.; THOMAS, P.D.; TOSATTO, S.C.E.; WU, C.H.; BATEMAN, A. InterPro in 2022. **Nucleic Acids Research**, 2022, DOI: 10.1093/nar/gkac993

PESTANA-CALDAS, C.N.; SILVA, S.A.; MACHADO, E.L.; DE SOUZA, D.R.; CERQUEIRA-PEREIRA, E.C.; SILVA, M.S. Genetic divergence through joint analysis of morphoagronomic and molecular characters in accessions of *Jatropha curcas*. **Genetics and Molecular Research**. v. 4, p. 1-11, 2016. DOI: 10.4238/gmr.15048385

QUEIROZ, D.C. **Avaliação de progênies de meio-irmãos e identificação de clones promissores de pinhão manso por meio de caracteres morfoagronômicos e moleculares**. 2015. 116f. (Doutorado em Ciências Agrárias) Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2015.

RABOANATAHIRY, N.; WANG, B.; YU, L.; LI, M. Functional and Structural Diversity of Acyl-coA Binding Proteins in Oil Crops. **Frontiers in Genetics**, v. 9, p. 182, 2018. DOI: 10.1371/journal.pone.0129650

RASMUSSEN, J. T.; FAERGEMAN, N. J.; KRISTIANSEN, K.; KNUDSEN, J. Acyl-CoA-binding protein (ACBP) can mediate intermembrane acyl-CoA transport and donate acyl-CoA for beta-oxidation and glycerolipid synthesis. **Biochemical Journal**, v. 299, n. Pt 1, p. 165–170, 1994. DOI: [10.1042/bj2990165](https://doi.org/10.1042/bj2990165).

RIAYATSYAH, T.M.I.; SEBAYANG, A.H.; SILITONGA, A.S.; PADLI, Y., FATTAH, I.M.R., KUSUMO, F., ONG, H.C., MAHLIA, T.M.I. Current Progresses of *Jatropha curcas* commoditisation as Biodiesel Feedstock: A comprehensive Review. **Frontiers in Energy Research**. v. 9, 2022. DOI: 10.3389/fenrg.2021.815416

RUATPUIA, J. V. L.; HALDER, G.; VANLALCHHANDAMA, M.; LALANGPUII, F.; BODDULA, R.; AL-QAHTANI, N.; NIJU, S.; MATHIMANI, T.; ROKHUM, S. L. *Jatropha curcas* oil a potential feedstock for biodiesel production: A critical review. **Fuel**, v. 370, p. 131829, 2024. DOI: 10.1016/j.fuel.2024.131829

RYCHLIK, W.; RHODES, R. E. Optimization of the annealing temperature for DNA amplification in vitro. **Nucleic Acids Research**, v. 18, n. 21, p. 6409-6412, 1990. DOI: [10.1093/nar/18.21.6409](https://doi.org/10.1093/nar/18.21.6409)

SALLADINI, E.; JØRGENSEN, M. L. M.; THEISEN, F. F.; SKRIVER, K. Intrinsic disorder in plant transcription factor systems: Functional implications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 24, art. 9755, 2020. DOI: [10.3390/ijms21249755](https://doi.org/10.3390/ijms21249755).

SANTA LUCIA JR., J. A unified view of polymer, dumbbell, and oligonucleotide DNA nearest-neighbor thermodynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v. 95, n. 4, p. 1460-1465, 1998. DOI: [10.1073/pnas.95.4.1460](https://doi.org/10.1073/pnas.95.4.1460)

SANTOS FILHO, O.A.; ALENCASTRO, R.B. Modelagem de proteínas por homologia. *Química Nova*, v. 26, p. 253-259, 2003. DOI: 10.1590/S0100-40422003000200019

SATO, S.; HIRAKAWA, H.; ISOBE, S.; FUKAI, E.; WATANABE, A.; KATO, M.; KAWASHIMA, K.; MINAMI, C.; MURAKI, A.; NAKAZAKI, N.; TAKAHASHI, C.; NAKAYAMA, S.; KISHIDA, Y.; KOHARA, M.; YAMADA, M.; TSURUOKA, H.; SASAMOTO, S.; TABATA, S.; AIZU, T.; TOYODA, A.; SHIN-I, T.; MINAKUCHI, Y.; KOHARA, Y.; FUJIYAMA, A.; TSUCHIMOTO, S.; KAJIYAMA, S.; MAKIGANO, E.; OHMIDO, N.; SHIBAGAKI, N.; CARTAGENA, J. A.; WADA, N.; KOHINATA, T.; ATEFEH, A.; YUASA, S.; MATSUNAGA, S.; FUKUI, K. Sequence analysis of the genome of an oil-bearing tree, *Jatropha curcas* L. *DNA Research*, v. 18, n. 1, p. 65–76, 2011. DOI: 10.1093/dnares/dsq030.

SILITONGA, A. S.; ATABANI, A.; MAHLIA, T. M. I.; MASJUKI, H. H.; BAHARUDIN, B. T. H. T.; TENG, T. T. A review on prospect of *Jatropha curcas* for biodiesel in Indonesia. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 15, n. 8, p. 3733–3756, out. 2011. DOI: 10.1016/j.rser.2011.07.011.

SINGH, V. K.; GOVINDARAJAN, R.; NAIK, S.; KUMAR, A. The effect of hairpin structure on PCR amplification efficiency. *Molecular Biology Today*, v. 1, n. 3, p. 67–69, 2000. Disponível em: <https://www.caister.com/backlist/mbt/v/v1/11.pdf>. Acesso em: 27 jun. 2025.

SOONTORNCHAINAKSAENG, P. & JENJITTIKUL, T. Karyology of *Jatropha* (Euphorbiaceae) in Thailand. *Thai For Bull*, v. 31, p. 105–112, 2003.

SPINELLI, V.M.; ROCHA, R.B.; RAMALHO, A.R.; MARCOLAN, A.L.; VIEIRA JÚNIOR, J.R.; FERNANDES, C.F.; MILITÃO, J.S.L.T.; DIAS, L.A.S. Componentes primários e secundários do rendimento de óleo de pinhão manso. *Ciência Rural*, v.8, p. 1752-1758, 2010. DOI: 10.1590/S0103-84782010005000129

TAO, X.; HUANG, Y.; WANG, C.; CHEN, F.; YANG, L.; LING, L.; CHE, Z.; CHEN, X. Recent developments in molecular docking technology applied in food science: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 55, n. 1, p. 33–45, 2020. DOI: 10.1111/ijfs.14325. DOI: 10.1111/ijfs.14325

TEUFEL, F.; ALMAGRO ARMENTEROS, J. J.; JOHANSEN, A. R.; GÍSLASON, M. H.; PIHL, S. I.; TSIRIGOS, K. D.; WINTHER, O.; BRUNAK, S.; VON HEIJNE, G.; NIELSEN, H. SignalP 6.0 predicts all five types of signal peptides using protein language models. *Nature Biotechnology*, v. 40, p. 1023–1025, 2022. DOI: [10.1038/s41587-021-01156-3](https://doi.org/10.1038/s41587-021-01156-3).

THE GALAXY COMMUNITY. The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2022 update, *Nucleic Acids Research*, v. 50, n. 1, p. 345–351, 2022, DOI:10.1093/nar/gkac247.

UPADHYAY, P.; DIXIT, V.; BHATI, P. K.; VISHWAKARMA, M. K. Marker-assisted selection and genomics tools for improving crops. In: AHLAWAT, Y.; CHAUDHARY, D.; JAIWAL, P. K. (org.). **Next-generation strategies for crop improvement**. Singapore: Springer, 2025. p. 111–144. DOI: [10.1007/978-981-95-0309-4\\_5](https://doi.org/10.1007/978-981-95-0309-4_5)

VU, L. D.; GEVAERT, K.; DE SMET, I. Protein Language: Post-Translational Modifications Talking to Each Other. **Trends in Plant Science**, v. 23, n. 12, p. 1068–1080, dez. 2018. DOI: [10.1016/j.tplants.2018.09.004](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.09.004).

WANI, T. A.; KITCHLU, S.; RAM, G. Genetic variability studies for morphological and qualitative attributes among *Jatropha curcas* L. accessions grown under subtropical conditions of North India. **South African Journal of Botany**, v. 79, p. 102-105, 2012. DOI: [10.1016/j.sajb.2011.10.009](https://doi.org/10.1016/j.sajb.2011.10.009)

WU, P.; ZHOU, C.; CHENG, S.; WU, Z.; LU, W.; HAN, J.; CHEN, Y.; NI, P.; WANG, Y.; XU, X.; HUANG, Y.; SONG, C.; WANG, Z.; SHI, N.; ZHANG, X.; FANG, X.; YANG, Q.; JIANG, H.; CHEN, Y.; WU, G. Integrated genome sequence and linkage map of physic nut (*Jatropha curcas* L.), a biodiesel plant. **The Plant Journal**, v. 81, n. 5, p. 810–821, 2015. DOI: [10.1111/tpj.12761](https://doi.org/10.1111/tpj.12761).

XIAO, S.; CHYE, M.L. An Arabidopsis family of six acyl-CoA-binding proteins has three cytosolic members. **Plant Physiology Biochemistry**, v. 47, p. 479-84, 2009. DOI: [10.1016/j.plaphy.2008.12.002](https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2008.12.002)

XIAO, S.; CHYE, M. L. New roles for acyl-CoA-binding proteins (ACBPs) in plant development, stress responses and lipid metabolism. **Progress in Lipid Research**, v. 50, p. 141–51, 2011. DOI: [10.1016/j.plipres.2010.11.002](https://doi.org/10.1016/j.plipres.2010.11.002).

XIAO, S.; GAO, W.; CHEN, Q.-F.; CHAN, S.-W.; ZHENG, S.-X.; MA, J.; WANG, M.; WELTI, R.; CHYE, M.-L. Overexpression of Arabidopsis acyl-CoA binding protein ACBP3 promotes starvation-induced and age-dependent leaf senescence. **Plant Cell**, v. 22, n. 5, p. 1463–1482, maio 2010. DOI: [10.1105/tpc.110.075333](https://doi.org/10.1105/tpc.110.075333).

XIAO, S.; LI, H. Y.; ZHANG, J. P.; CHAN, S. W.; CHYE, M. L. Arabidopsis acyl-CoA-binding proteins ACBP4 and ACBP5 are subcellularly localized to the cytosol and ACBP4 depletion affects membrane lipid composition. **Plant Molecular Biology**, v. 68, p. 571–583, 2008. DOI: [10.1007/s11103-008-9392-7](https://doi.org/10.1007/s11103-008-9392-7)

XIE, L. J.; YU, L. J.; CHEN, Q. F.; WANG, F. Z.; HUANG, L.; XIA, F. N., et al. Arabidopsis acyl-CoA-binding protein ACBP3 participates in plant response to hypoxia by modulating very-long-chain fatty acid metabolism. **Plant Journal**, v. 81, p. 53–67, 2015. DOI: [10.1111/tpj.12692](https://doi.org/10.1111/tpj.12692)

YAO, Y.; OUYANG, C.; JIANG, L.; LIU, X.; HAO, Q.; ZHAO, G.; ZENG, B. Specificity of acyl-CoA binding protein to acyl-CoAs: influence on the lipid metabolism in *Aspergillus oryzae*. **RSC Advances**, v. 6, n. 97, p. 94859–94865, 2016. DOI: [10.1039/C6RA20532A](https://doi.org/10.1039/C6RA20532A).

YE, Z. W.; XU, J.; SHI, J.; ZHANG, D.; CHYE, M. L. Kelch-motif containing acyl-CoA binding proteins AtACBP4 and AtACBP5 are differentially expressed and function in floral lipid metabolism. **Plant Molecular Biology**, v. 93, p. 209–225, 2017. DOI: [10.1007/s11103-016-0557-5](https://doi.org/10.1007/s11103-016-0557-5)

YEBOAH, M. A.; AGYEKUM, A. A.; OFORI, D. A. Proteomic evaluation of free fatty acid biosynthesis in *Jatropha curcas* L. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 11, p. 890–899, 2015. DOI: 10.5897/AJB2014.14047

YOUSAFI, Q.; AHMAD, H.; RASHID, H.; KHAN, M. S. *In silico* comparative proteomic analysis of enzymes involved in fatty acid biosynthesis in castor bean (*Ricinus communis*) and soybean (*Glycine max*). **Doga, Turkish Journal of Botany**, v. 43, n. 1, p. 1–26, 2019. DOI:10.3906/bot-1708-48.

ZHANG, X.; LI, J.; PAN, B.-Z.; CHEN, W.; CHEN, M.; TANG, M.; XU, Z.-F.; LIU, C. Extended mining of the oil biosynthesis pathway in biofuel plant *Jatropha curcas* by combined analysis of transcriptome and gene interactome data. **BMC Bioinformatics**, v. 22, suppl. 6, p. 409, 18 ago. 2021. DOI: [10.1186/s12859-021-04319-w](https://doi.org/10.1186/s12859-021-04319-w).

ZHANG. Z.; GUO, X.; LIU, B.; TANG, L.; CHEN, F. Genetic diversity and genetic relationship of *Jatropha curcas* between China and Southeast Asian revealed by amplified fragment length polymorphisms. **African Journal Biotechnology**, v. 10, n. 15, p. 2825–2832, 2011. DOI: 10.5897/AJB10.838

ZHU, J.; LI, W.; ZHOU, Y.; PEI, L.; LIU, J.; XIA, X.; CHE, R.; LI, H. Molecular characterization, expression and functional analysis of acyl-CoA-binding protein gene family in maize (*Zea mays*). **BMC Plant Biology**, v. 21, n. 1, p. 94, 2021. DOI: 10.1186/s12870-021-02863-4.

## APÊNDICES

### MATERIAL SUPLEMENTAR

**Tese:** Estudo das proteínas ligantes a acil-coa em *Jatropha curcas* L.

**Doutoranda:** Francielly Carvalho de Oliveira

**Orientadora:** Dra. Simone Alves Silva.

**Coorientadores:** Dr. Ciro Ribeiro Filadelfo; Dr. Raner José Santana Silva

### Sequências Gênicas JcACBPs

#### Legenda:

As regiões correspondentes aos éxons estão destacadas em **amarelo**.

As sequências dos primers estão indicadas em **vermelho** nas respectivas sequências gênicas.

#### JcACBP1

>NW\_023590789.1:c22408407-22406192 *Jatropha curcas* isolate ELGS0001-1231 unplaced genomic scaffold, RJCl\_Hi-C scaffold\_1202, whole genome shotgun sequence

GTATAAGTGCTTACATGTAAGGAATCCCCTGCCACTCTCGTTGTATAAGTACCACAAGCTCAGCCTTTA  
**TTGGCGATACG**TTCTATAAAATCAATCAAGAAATTATCGTCATCAGATTATTCTCACATAGCTGCAAATGG  
 GTTTGAAGGTATGCCACCACCTCCCTTTTTCTTTGTTCAATTATTGCGAAATCATCTATTTGACTAAAT  
 CCTACAATGTAGAATCCAACCTGTTTTGGTTTGTGGTTTGTCTTGTCTTGTCTTGTCTTGTCTGCGTAG  
 CTATTTGTTAGTTAGATCTGACATTTGATTTATTGGATTATCCTTTAAAATAGTTCAAATCTATTTGTCT  
 CAGATTCATCTTTGATGGGTTAGTCTTTGTTTGTATAAGTTTATAATGATCAGTGATGCGTCAGTCTTTG  
 TTTGTACAAGTTTATAATATCAGTGAACCTAAGTTGGGTTTGCCTTATTTAATTTCTGAGGATCTGTA  
 TTTCTTCTGAATCTTATGATATATCTCTTGCTGCCATAGATCTATGATAGGCTTTTATATTGATCCA  
 ATCAATCTTCTGATTTCTTTTTCTTTTTCTTATTTCTTTCTTTGATCCAATCAGAAAATTGAAAAGTC  
 TGATAGATCATTGTTTAAATTTTGAATGAAAAATAAATTTATGTATGTGTTTATGTATACG  
 CATTGCGCCGATATGGTCTTATAGTACTATATTTTCTAATTATAGTAAAAGTTTAGAATCAACTGT  
 TATTGAGCTTTTAGGCTGATGATTGAGGTCAAACGCCATTCTTTTAAAGAATTTCTGTATACCAAATAA  
 TTAGAACCTATTGATGAATATGAATAAAAAATTTCTCATAGAATTTTTTTTTAAAGCAATAAAAGAAGAAC  
 TAATTCATGTATTTTCAAGAATTTTTCCCTGCTTGACTGAGGCTAACTGATCGCATCTTGATTTCAATTTG  
 ATTTTGTGATGGAGTCTTGAGCTATTTCTAGTCAAGTCTTTTACAATGGTCCAATAGTTTATGCTGGTG  
 CAGATATACTATTACTTATTTTTAAGCTTAGGGGTGAATAGTTATAGTTCCACTCAACACATGATAACAT  
 TGAGTGAATCACTTGCTGTATAAACCTAGTTACCTAGTTCCCAACCCTCTGATATTATTGTCCGCTTATA  
 GGTTCAGCATTAGAAATCAATACTCAATTACACCATTTTCTTCCCTGTGTTTGGTTATCTGGAACAGCT  
 TATAGGGACAGTAAATGAGGGCTTTTATTGGGAATGTGAACGTTAGCCTTTTGAAGTGAAGATTTTT  
 CATTCTAATGTGATATTGGTTGCCTTCTGAACAAGATATTTTGGTCAATGACCTTCTACATGAGTTGGTG  
 TAGCTACAGAATGCCTCTCATTATAGGCTTTCATAATTTGGATTTCAAATCATTTCATGTTTGGATGTGA  
 ACAAGTCAAATTACGCTCTCCTTGTGTATTGTAGTCTCAATATTTGAGTTGGTGTCTGCAGGAGGAATTTG  
 AGGAGTATGCTGAGAAAAGCTAAGACCCTTCCGGAAAACACAACAAATGAGAACAACTTATTTTGTATGG  
 GCTTTTTAAACAAGCCACTGTTGGACCTGTGAACACCAGTAAGTGATTGCTCTCCCTAGATAGAGTCCCT  
 TTAACCAAATAGTATTCTAGTTTATGATTTCTTAATCAAAGTTAAATTTAAGAATTCGATTGAATCTGATT  
 TGCAGGCCGCTCTGGAATGTTCAACATGAGGGACAGAGCAAAGTGGGATGCATGGAAGGCTGTTGAAGGT  
 ATTACTAAAATTTATATATATCATTTCCTGATGATTTTGGATTTGCTTATGTTCCAGTTGTTTCAACA  
 CTGATGTAATTTGGAATTTGGCAGGCAAATTAAGGAAGAAGCAATGAGTGACTATATCACGAAGGTTAA  
 ACTGTTGCTGGAAGAAGCTGCAGCAGCGGCTTCCGCTTAGTGTGTTGGCCATGCATATGTAAGTGTG  
 TTCATTATAGTTAAAAATCAGTTCAATAATGTATCTGGATTTGTAATGTGATGTTAACTTGTGCCAATA  
 ACTTTCAGAATTAGTTTATGTACTTTGTACTGCAATGGATTGGAATTAATATGTTGGGATAGTGTCTTCT

CTTGCCTGTGCTTGAAATTGCCCTACTCCTAAGAGGTTGAAGAAGAA

## JcACBP2

>NW\_023590682.1:c210912-202464 *Jatropha curcas* isolate ELGS0001-1231  
unplaced genomic scaffold, RJC1\_Hi-C scaffold\_1106, whole genome shotgun  
sequence

TTTTTCGCCTTTTTTCTAAATCAAATGTAGATATTACCGAGCACAATTAGAGAGAGAAAGGAAGTTAAG  
AAGAGCGAGGATATCCGATTTTCGAGCTTTTACAGAAACAGAAACAAATTTCCAAATCCCAAACCTGGGCCA  
ATACACAAAACCACCTAACGTGCCACTTTAATACAAGCTTAAACATTTTTTTATTTTAACACGCATTTCC  
CTTCGAACCTTGAAACACAAGCATAAACCATAGTCATTTCTCAGTCTCAAATCAAATCTTAAGTGAGAGA  
GGGGCAGGAGGAGGAATAAATGGCTATGGCGAGGGCAAGTTCTGGCCTCGCATACCCGGAGAGATTCTAT  
GCGGCCGCCGCATACGCTGGATTTGATGGATCTCCAAATTCACCAATATTGTCTCCTCTAAGTTCCAAA  
ACGACACCGCTTTGCTCCTTTACGCCTTGTACCAGCAGGTAGCTCCTCAATTCTCATGTTTCGCTCTCGT  
TTTCTTATCTCCGATCCAATGACTTTTGACGTTTGTGATTTTGGAGCGATCTTATTTCGCTTTAATTCCTG  
GCGGTATCATTGCACTCTTTGCAATGGTACTCTTGTGTTTGTGTTTACACGAATTTTCGTTTCATTTTGTGAT  
GTTAATTTTCAGCTGAATTGCTATATTGCTAAATATTATTGGTTTATAACAAACAATTGAGTACTTGTAA  
TCTGTGAAAGAGCTTGAAGTCATTTCCCGCAGTGTGCTGTTTTAGTGCAATTTGTTTCTTTGCTTTAAT  
TGGCTCTATTGACCTATGTTGTGTAATGCTGCTTCTTCTGGAGCTGTTTGAGTCCGGACTTTGGGTGGAT  
CTAGTATTAGTGAATGACACTTAGGCATTCAGAATGCTTGTCTGCAGTCTTGAACATGAACTTTGATGCA  
ATTGAGATTATTTGAAGTGAATTATGTGGTTTTGCTTTCTTTTCTTTACCTTTTTTCTTTCTGCAAAATGG  
ACACTGGCTGGTTTTGAGATTGAATTTTTTGTGATTCAGATTCCGGTCTTAATTTCAATTTACAATATCAATTTG  
GTATTGGCTTTCTGATCTGTTGGTATGCATTAAGTTGGTAAATAGGTTTTTGGAGTGGATTGCTGGATCT  
GGACTATTCATTGGTGATTATTTTCATGCAAAATTAATGTGTTGCAGGCTACTGCAGGACCATGTAATACA  
CCAAAACCAAGCACTTGAATGCTGTAGAACAAGCAAAATGGAAGAGGTTTTGTTATGTGCTTATGCTTTGT  
TTACTTTGTTTATTTTTTTCTATGAATTCACAAACAGCATCGCAATCAGCATATCTTTTCATGGGCAT  
CTACTTTGATGATGTTCTCAGTTATTTTGGTGTCTTCTCGGGTTACTGGAGATATATGCTCTGGAAACTAGG  
AGCAATTATGTGAATAAAATTGGGACAAAACCTGTTTAGGATAAAAAGCGAATGTGAAACAAAAGATCATT  
TATTTTTGTGGAGAATTGAGTAATATGGTAGGCTATAGGGAAAGGTAATCAAAACAATGCACAACCTAGGC  
TGATAAACTGATCTGTGTATGTGCATTCGCACTTGTGGTAGGTGAGTAGCGTGTGTTATACATTTTTCTT  
TCCAACCTGGTTGGATTATAAAAGTCTCAAGTGGTAGGATACTACAAGATTTAGGTAGTGTATCACAATA  
TTCTACAGTTTGATGTACATTTGATTTTTGTATTTCCATTGTTATTATAATACTCTGTCTACTATTTTGAG  
AGTGCTCTTCTAAAAGTTTTAGCATTTGTGCAGCTGGCATGGGCTTGCCAATATGGCTTCCACTGAAGCA  
ATGCGTCTGTTTGTGAAGATATTGGAGTCCATAGCAATGGAATTTCTCAGGTTTCATGTTTTAATGAATTA  
TCTGGAATATGGACCAATTATTATCATTAGTATTTTATTTCTTGGCAGGAAGAAGATCCGGGTTGGTATTC  
TAGAGCATCTAACTTTGTTTCAGAGCCTGTTGTAGACGTGCAAATGAATGTGAGTACCTCAGGATTATA  
CACTGGAGTTAATTTTTCATTTCTATCAGTGGCGCACCCTTTTTCTTAGTTTTTTATTTTCTTCCGCATGC  
TTTCTTGATCGATATTTTTGCTAGCTGAAAAGATGTGAAAAATATGAAAAATAAATCTGAAAGAATGTCA  
AGAATCTCAGTGTCAATTGCATTCATGTATATTTTCAAATTTGCTTGCTGTAGCATAACTCAAAGTTGAG  
GCTGTTGTGAGAAATGAAAACCTTTTCCAGAGACAAAAGACCCTTCCAGTGAGAAATGGGACTGTCAATG  
AAACTCAGGATAAAGATGTTGTCTCAGAAGCCCTGGTTTCAGTTGTTGTGTACGATCAATGGATTGCCCC  
CCCAATATCTGGCAACGCCAAAAGCCGATATGAGGTTGCTTGTCTACTACTCTTTTATCTCTTTTAA  
GTACATTTTGGTCTTGGTATTTCTAGTTATTATTATTATTATTATTATTATTATTATTATTATTATTATT  
ATCCATCTTTTGTCTGTAACAAAATCTTTTCATGTTTTTTCAGCATGATGCGGCTATTATTTCAAGACAAGAT  
GTATATATATGGGGGGAACCACAATGGCCGTTATCTAAATGATCTTCATGTAAGCAAATTTATCTTCACTT  
ATGCATGCATGATTGTGAGTGTCTCATAGACTGGAGTTTTTATTATTGTGTATGAATTTAAATCAAATACCA  
ACTTGTGGATTAAAATGGAGTCCCTAGGAACTTAACTGATCCTGAAATGCTTTGTGAGTCTATTGAACT  
GACGTTCAAATACTTTACTTACGTAGAAAATTTGTTGCTGTTTTATGCATTACATGTTTTTTGGGCTTTC  
TTACTTATTTGTTATGCGTATCTCTTTACCTTTGTAAAGGTTGTAAACTCTCAGTTTCTTCTCTATGA  
ATGCCTCTTCTAAAGAACTTATCTCAAAGTTTGAAGCACAATGCAGGTACTGGATTTGAGAAGCTGGGC  
TTGGTCTAAGGTTGATGCTAAGATTGAGGAAGAGTCGGATGGATCGAAAACCCCTGCTACTATAACTCCT  
TGTGCTGGCCATTCCTGGTTAGTCTTTTACTGACTTTTCTCTAATTCATGATTTCTCACAATATGTGCCA  
CTTTTGCATCATATTATTGTGGAATTAAGTTTTGATCTGATATTGATTTCAATCCAGTGAGGTAATGTAT  
GATACCTTTTTGTGTTTTGAGATACCTTGGGAGAATAAGCTTCTAACAATTTGCTGGACACACCAAGGATC  
CTTCTGAATCCATCCAGGGTATGTAAAGTATTATTGATGTCTATTTCTGTGATTTGCAACAACCTCACTTG  
ATGCTTTATTACTTTCTTATGGCAGTGAAGGTGTTTGTATCCACAACTCGTTGTTGGTCAACGTTAAAGA  
CATATGGGAAAGCTCCGGTATATAACTGAAACATCTTCTGTAAACCAAAATAAAGGAAATTAATTTATGACTC  
TCTTTTATTTCTCTAATATTCCTTTTCCATCCCATATTGACTAACAAGAAGGAAATTAATTTATGACTC  
TGTAATCTTAATTTCTAACCTTCTATTTCTGGAAGGGCTGTGCTGCCTTTCTTATGTTTCTTTGACATTC  
AAGAAACTGAAACCAAATTTCAAGTTATTGTTTTGCCAAGTTTGTGAGTTTTGCTGCAAGATTGTGAGCCA

AAAC TAACACTGTGAAACTTCAAATCAAATTTTGTATTGGATTTGTGAAAATCAAATTTTGAATAGAAAA  
 GGAGTAATTGCACACTTGCAGTTTCCCTTCAGATGTTTATCTAGTGGTACTGATTACTTGCAAAAGTGT  
 AGGAATCATTATTTTTATTGCATTGCAGGTCTCACGTGGTGGTCAATCTGTCAGTCTTGTGGGACAAGC  
 TTAGTGATTTTTGGTGGTCAAGATGCGAAGCGATCTCTTTTGAATGATTTACATATCTTGACCTAGAAA  
 CCATGACTTGGGATGAAATTTGATGCTATGTAAGATGATTTCTGGCAATTTTAGATGCTATCCCCCTCTCT  
 CCCACCCCCCAAAAAACACACACAATACCATTTTGTCCTTTTGTTATGGTTAAGGAATGATTTAACT  
 TTTATGGAAGTCTATTAATGCACAGATAGTCAGAATGTCTCGAATTAGAGTAATATTGATGAAGTATTAG  
 TGCTCCAGAAATTAACAACATAAATGATATGAGATGTTTAGATTCTCTGATTGAGTAGAGGGCCTGTG  
 AATTTCTTACCATGATGAAGAAGTTCCCTTTTATCTGAATTAGTAGGATTTGTATTTGATTCAATTCAG  
 GAGTCGGAACCAATACCATAATGTTTCAAATGTCTAAACCGTTTTAATATTTAATTATAAATCAATC  
 ATGGATTTGTAGAAAAAAGTATAGGTATTTTTTTGTTGGGAAATACCTTAGGGATTAATTCACTCTCTT  
 ATTATTTTGTAGTGGCGTGCCTCCTTCTCCAAGGTCTGATCATGCTGCAGCAGTTCACGCAGAACGCTAC  
 CTGCTTATTTTTGGTGGTGGTTCACATGCTACTTGTTCATGATCTGCACGTGCTTGATTTACAAGCTG  
 TAAGAAAAAATAATGAATAATTTGTTGTTGTGCTGGATTGTTACTAATTTCTTTTATGTATTGAATT  
 TTCAGATGGAATGGACACGACCCACACAACAGGGGGAAATACCAAGTCCACGGGCTGGACATGCAGGTGT  
 GACAGTTGGAGAGAATTTGTTTATTTGTTGGTGGTGGTACAACAAGAGTGGTATGAATATTACATCTTAA  
 GCATTTAACTCCAAATCCTTTTATGCTTGGTCTAAGAAAAGAAAATATTGAAAACAAAAACCCAAAAAC  
 AAGCAGCAATTCACTTGAAAATTTCTTCTTGCAAATGCTTAGAACTGATCCTAACCTTACTTAGGCCAG  
 TAATCATCACATTGTTGAACTATTTTTTTTATTTTTTATTTTTTTACCTTTCCTATAGAAGATCTAATGG  
 CGTTCATTTAAGGCACAAAAAATGATAATAATTTAACACTCACTTTGTTTGAATAGAATTGCAAAATTCG  
 CCTGATTTATAGATTTTTTCCCTTATAAAGCCATCATAACATGATTGTTTTCAAGTCCCTTTGTGGAGCTGG  
 AGGCATATTATCTTCCCTTTTTATATAGCAATGGATTCAATTCAAAAACAAAAACCTCAATTAAGGGAC  
 CTAACAAAAAACAATAAGCACAAAAAATAAGTGAAGAAAGAAATTTGGTGGTGGGAAACTAGGAATTAAGT  
 TGTTCTGCATAATTTGGTGCATTGATGAAATTTAATATGGTTGACAGAAGAGAGTGACACAATCATGTTG  
 TTCTGTCCATAAGTCAGTTTTTATGCTGTGTTTATGTGTCCATTGATAGTATTTTCTTTCCATTACTC  
 TAAAGTTGATCATATGATAGATTTTTTCGGACGAAGCTTCATATTTCTGTTTCAAGATAAAGTGTCTAC  
 CAGATGTTCAATAAAGAAATATTTAAGTTGTGTTTGTGTTTGGTAAATATATCATATAAATGTTCTACAT  
 TTTTTAACTTTTACAGGGGTCTCTGAAACTGTTGTCCCTGAACATGTCTACGCTCGTTTTGGTCTATCGTGAC  
 TTCTGTTGAAGGGCGTGTTCCTCTTGCCAGTGAGGTATCTTATGCGAATGAGTACTATTTACATTGAGTG  
 ATGCTGAAATTTGGTACAGAACCCTGCATGAAAATTTGTTGGAAACATGAAAGTCTGCATGAATGCTTGAG  
 TTTTATCTTGCATCCTGAAGTTTATCATTTTTTGTGAAGGTTGAACCTGAATATACTTTTAATGCATGCCT  
 TTGTATATTATCTGGTATGAAATAATTTGTAATGGTCAAATTTATATGATTTTGAATTTTGTGTAATGGA  
 AATCGTCCAGTGAAATTCAGGTTTCTGGGAAGGAATATGATCTAAGTGCATCTAAATTTCTTCAGTTTTCA  
 GTACTCAAATTTATCATTGACCCTATGTTGTTGTGCTGATACTATTATTTGATTTGCTTTATTTTCACTTGG  
 AAATTTTTGTAATCTGATAATATTTGTTTCACTTCCAATCAAATTTCTCATAAATATTGGAGGGCTTCT  
 TGCTGATTGCTTTTTTCAATTTGCGGAAATGCTGTGGTGGAAATAATTTAATCTGTCTCTGATTGCAGGGCT  
 TGAGTTTGGTCTGAGCTCCTACAGTGGTGAAGATTTCTTGTATCATTTGGGGATACAATGGACGTTA  
 CAGCAATGATGTTAGTGTGATATTAACACTTTTTAGTGTGCTTCTTCCCTCGCACTTTTTCCCTGTTTTCTG  
 ATTTTTTGTGCTCATTATTAGGTCAATGTTCTTAAACCAAGCCACAAGTCTACCTTGCAATCAAAGATT  
 GTGGAGACTCCAGTGGCCGACAGTGTCTGCTGTACCATAACTACAAACCTACCAGAGATTGGAAT  
 CTGAGTCGGGCCAAGAAAGCAAAAATAAGGGAAATTTGTTATGGATAATGCTGATCCAGAGCCCATGGTATG  
 CCAAATGCAAGATTTCTTTTCTTTTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAAAGATATCTTGTATCTT  
 TGGGGATACAAATGGACGTTACAGCAAAATGATGTTAGTGTGATATTAACACTACTTTTTAGTGTACTTCTT  
 CCTCGATTTCCCTGTTCTGAATTTATTTGATGCTCATTTATTTAGGTCCAATGTTCTTTTAAACCAAAGC  
 CACAAGTACCTTGAATCAAAGATTGTGGAAGACTACCCAGTGGCCCGACAAGTGGGTTTTCTGCTGTAA  
 ACCTAATACTAACAAACCCTTACAGAAGATTTTGGAACTGAAATCGGGCCAAGAAGCAAAAATAAGGGAA  
 ATTTGTTATGGAATAATGCTTGAATCCAGAGCCCATGGTATGCCAAATGCAAGAACTTTTTCTTTTCTT  
 TTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGACTGCAGATATGAAATTCAGCACTCTCCCTTTTTTTTTTTTT  
 TTTTTTTTTTTTTTGGACTGCAGATATGAAATTCACACTCCCTTATTTGTGTATGTATACCCACGTTACTTC  
 TGATAATCAAATTTTGAAGTTCTTTTCAAGAACTAAAGAAGAAGTGTCTAGTGAACATATTTTAGCAAC  
 CTTAAAGGCAGAGAAAGAAGATGGAGTCACTCTTAGCAAGGAGAAATGCAAACTCATCAATTAAG  
 CAAGAATTGACTGAAGCAGAGACCCGTAATACTGATCTCTACAAGGTAATATTTTGAATGGTGTAGTTC  
 CTAAAGCTCCTGGTATACCTTTTATTTATCATTTTCAATCAACTAACATCTGCTTTTCACTAATTAATAAT  
 CCATGGATCATGGTACATAAGGGGTGTTTCTCTTTTCTGAAATGACAACCTTTGTTTCTCGACATTTTAGG  
 AGCTCCAATCTGTGCGTGGTCAACTTGTGCTGAGCAGTCTAGATGTTTCAAACCTAGAGGTATGTCTTAA  
 TTCTGCATTTTCGCTATTTGTATCTGCATATTTCTTGTGTACATTTGGCAATCATTCGATGATGCTGGAAGC  
 AAAAAAGATTTGTTATCTAGTGAGTTCAGCACTTCCATGAAGAATCATCTCTGTGATATCTGTTTACTTG  
 AAGTGTGAAAAGTTACCTAATTTGCTCGTAGTCTTCTCCTGCTATCAATGTTGAATTTAGTTAATTTGAG  
 AACCTCTAGCAACTTCTCAGATATATTCATAGTCTGAGAGGCTGCTTTATGATGTTTCAATTTGAGACTGCCT  
 ACTGGCGGACTTAGCTTAGTGTGTTTAAAGTAGGACCAGCATCAAGAAACACGGTTCCTCTTTTGCATG  
 TTTGATGGAATGTGCTCATGCTAATGGTCTTGGACCAACAGGTTGATGTGGCAGAACAAGACAAAAG

CTTCAAACGATGGAGGCACTACAAAAAGAACTAGAGCTCCTTCAGCGCCAGAAGGCTGCTTCTGAACAAG  
 CTGCATTAAATGCAAAACAGAGGGAGGGCTCTGGTGGTGTGTGGGGTTGGCTAGCAGGAACCTCCTGGTAG  
 CCAAAGAAAGGATGAAGACTGAATTTTGTCAAAGCCTTGTTAAGTAGTGATTGTTAGATTGGTTTTTCATT  
 GATCAATTTTTCTATCAAATATTTTTTTGTTTTACTTATCCCAGTTCTTTCTTTGATGGGAATAAAAAATA  
 TCAAGTTTTTGTGGCCAGATTGAAACCCCACTAGGTTTTTGCAGGAATATATGTACTGTAATTGTAAGT  
 TATGTAGTTCTATGTGGTCATTGCCGCTATATTTTTCTCTCTCAATTTTTCACAAAATTTGTATTTGAATT  
 GAATATATAGCTTGAATGAAGTATAGGTTTTTCATTATTTTTCCAATCAA

### JcACBP3

>NW\_023591768.1:35483-37457 *Jatropha curcas* isolate ELGS0001-1231 unplaced  
 genomic scaffold, RJCl\_Hi-C scaffold\_977, whole genome shotgun sequence  
 CAGTGAGGAAGGAGGGGAAAAAGTGTGGAGGGAGGGGAAGCTCTGTAATAGCAGTCTTGACCTCTAATT  
 GACAGCTCAGAACTGATGACGCTTCAACCGCTCCGACTCGTCTACCAATAGCGAAAGAGTCATTTTCAG  
 ATACCTTCTTTTCAAACCAATCCAATAATTATACAGCAGGACCGACACATTTCTTAGAATATACTTTGC  
 TCTGTTCTCTCAAATCCACCTTTCTATTCTTTCTCTGTGCGCTCATCAAATCTCAGATTCGTACTTTC  
 TTATCGTACTCCTTATCGTGAATGGCCATGGAGCTTTTCTTTGAATTCCTTTTGACAGTTGCTCTTTCT  
 ATTTTTGCTCTTTCTTCTCGCTAAGCTCCTCTCTACAGCAACAGCCAATGATAATGACCATTATTTTTG  
 AAAAAACAACCTACCCATTACCTTAAGTTCGAACCGAGTCTAAAAGTTATCACTTTGAGACGGAAAGGAA  
 ATTTGGGTTTTGTTTTCAAAAATTTGTAGGAGTTGATAAATTAGGCGAATCGATGGAGAATAAGTTTACCCAA  
 CAAGAATTATACTCTAATGAAGGTATCAAAATCGTTTTTTTCATGTAACCTGAAGATATAAAAACTGATGTTG  
 ATTTAACAGAGGAAGGTAGTAGAGAAGAAAAATGGTTTGCCTAAATTCGAAGAGAATTCGATTACTAAGAG  
 CGAAACTGAACTGAGATGGGTTTGATAAAAAGAACAAATAGATTTTGGTAAAAGTGAGATTAACCTTGAA  
 ATTGAGGAGGAGGATGATTGGGAAGGGATAGAAAAGAGTGAGTTAGAGAAGCTATTTGGTGCCTGCTGTGG  
 CATTTGTTGGTCTATCAATAATGCTGATAAAAATATTATTGAATATTAACAGTGATTTGAAGCTGAAATT  
 GCATGGACTTCACCAGGTTGCCATTGAAGGGCCTTGCCATGTGCCCTCAACCCAGGCCATTCAGTTCTCT  
 GCTCGCTCAAAGTGGTATTAACTTTTTTTTTTTCCTTTTTAAATTTTATTTCTCCTTCTCTTAGATTGC  
 TGTCTTTAGATTTTTGAGACAATTGAAGCAGAGAACTTCTCAGAGTTGTTGAAATTTATTGGAACAAATAA  
 ATTGAAGGTCATGATTATTAGGATTTAAGATTCAGTTAACCAAAGCTCAGTGGTTACTTGTGGAAATTC  
 AAATCACATTAACCTTCAGTTCTTGGCTGTAGCTTGGTTACCTTTTTCGTGGTTTCTTGAATTAATTTAT  
 GAATGGAAGTAATTAGATTGTTTGTATAGGAATGCATGGCAAAAACCTGGGAACATGAGTCCAGAGGTG  
 GCAATGGAGCAGTATATCAACCTTGTTC AAGAAGTATTCCTGGATGGATGAAAGATAATTTTGAGGTAA  
 GTATTTGTATTAATTTGTAGTTAAAAAGATGTGTTTCCAGTGAAAATGAAGGATAAAAAGCCTAGCTACT  
 GCAATAAGATGCTTTAGATAAGATTTGAGAGGTGGCGGTGGTTTAACTAATAACTGAAAGTGTGAGTC  
 TTGGTTTCTTTGCAAAATGGAGGCTAGAACAAC TAGTTTTAGATTTGGGTGGTCTATGTTTGTATCTCCTT  
 ATTCAAATGGAGGCTTAATGTATTAGAGACATTAAGCTACTTCAAACGCTAGTATTAGAATAAGTTGGCT  
 TAAAATGAAGCTACGCTATTAATTTTGCCTGTTTTGCCTCAGGATCAAGTGAGAAAAGTTGCATGCC  
 ACCATCCAGGAACCTTGCAGCTTCCAACCTGCCAATGGGGAGGGAGAAGGTATCTTTGAGGATTGGAACCTG  
 CGAGCCAGTTAAAGGGAGGATATAGAATAATGTAACCTGAGTAAAAAATGATGATAGCAGTT  
 TTAGGTTCTGTGCAATTCCTCAATTCATGATTCCCTCATTTGTTGGGAAAGAAAATATTTGGATATATGC  
 TAATCTTTTCAGAA

### JcACBP4

>NW\_023590956.1:4340965-4343509 *Jatropha curcas* isolate ELGS0001-1231  
 unplaced genomic scaffold, RJCl\_Hi-C scaffold\_245, whole genome shotgun  
 sequence  
 TGCGCGCTTTTTAGGACGCCTCCGTGACTTGCCCAACTCGCCAGCAAGGCGGGACCCACCTCTCTCGCTT  
 CATAATTTTAAAGGCGAAAAGTAATTTACCAAAGCTAAGAACAGAATATGCTTTGCTCTACCCTGCAAATA  
 TCCCTTCCCTCTCTGCAAATGATATTTTTCTTCTCTCTTTCTATATCTACTGCTAATTTCTCCTGCTGC  
 TCTTCTCACCTACCGTCGTATCTTCTTCTGCCACTTTCTTTATCTTTCTATCCATTCCTTAAACAAAGA  
 AACAACCATGGAGCTGCTTCAAGAGTTGTTTGTACCGCTTTTGTGCTGTTGTTTGTCTTTTTCTTATC  
 GCTAAGATTGTTTCTATTGCTATGGCTGGTGGCGATTCTAGCAATGCTTCGCAGTTGTCCAAGAGTCAAA  
 ATGATGATCAGAAAATTACCGGAGATGACGGTGATGAACGTGTCATGGAGGATTTGCGGTATTTTAAAA  
 GCTGAAGGTTGAGGGGTATACGAGTGAGAAGAGAGTGGAATTTGTTCAAGAAGGTGCACAAAAGGTGCGAT  
 GGGTTTGTGGAGGATCGATTGAGGCTGCGGAAGTCGAGAAAATCGGTGAACCGCGATGAAGTAATTGAAA  
 CTGAATGCCGTGAATTTGGTAACAATATCAGTTCGAAGAAGGTTTGAAGGAAGAGGATAAATCATCGGAGGA  
 TATGTTAGGTAAGTGCGAAGGAGAGTTTCAAGTAAACAGACACGTTGGCGTAGAATTTGGCTGATGGTAAG  
 GGTGCTATTGACGAGAAACAAAGAGGTGTTGATGATAATTTGCTTAAAGAAAACATAGAAATCGAGTCAG

TTGGCATAGAATCGTCTGTTAAAAAGGATGCTGTTGAAGAATCTGAGGAGATTCGGGTTGTGGGGAGTGA  
AACGATAGAAAAAGGTGAAGAGAAGAAAAATAGAGATTGATAGTGATGACGATGATTGGGAGGGGATTGAG  
AGGAGTGAATTGGATCACGTTTTTGTCTAAGGCAGTTAACTTGGTAGAGTCTGCAGATAAAGATGGAGGCT  
CGAGAAGTATAGGGAGCGATGTTCAAATGGAAGTGTATGGGCTTCACAAGGTGGCTACTGAGGGGCCCTTG  
CCGCGAGCAGCCGCTTTGCCTCTTAAAGTCGCTGCTCGGGCCAAGTGGTATTAACCTTTCTAACGCATG  
TATTTGGCTCTTTTATATATATATATATATATTTGGTTCTGTATTTATTTTTATTTTTCTGTTTGTAAATTGT  
CTGAATGAATGATAGATGGATAGCTTTGACATTAGAGATAGAGTTGAGAAAAATCAACACTAAAGAGTTAA  
GTAAGATATAAAAAGGTTAGTGGAAAGTAAAAAATTGCCGCAATGTGGATAAAATTAAGGAAAAATCCTGATCA  
AAATGTTTAAAAATGTGGCGGGTTGTGCATAAAAAATAATTGCAGTACAAGATGATATGAACATATGAGAAC  
CATCCATTGTGGACATCAAACGTACCTAGGCTGGAGTCTTGAACCAAAAAAGAAAAAATAGAAGCGATTA  
GTGATCCTCGTTGAGGCACTTCCATTGTAAGTGTTCATCTTTTTATCTTCTTGTCTCTTTCCACTCATGCT  
TACATCTACTATCATCATCTTTTATCTTCTTGTCTCTTCCCTATCTAGCTTACATATACTATTATGTCCTG  
TAGCAATAGAAAAAAAACACTCATATCTATACCCGTTTTGTCTTCATGTTGCAAATTTGAGATGTTGCTGAG  
GCTCCAGCTATCCATCTACATTTATTCCTTATGTGCTGAGCAATTCCTTCTTCCCTGTCCATTAGATTTCTAT  
ATAGTCATATCTCAGATAGAACCAAAATTCAGACAGCTTAGCATAGAAATAAAAAGTCTGGGTAGTCATC  
CATTTGTATACTCTCATATTTAGAAAAATTGTCCAATAAGAAAAAGAAAAATGAGTATACAACTACACCGT  
TAGGCCTGCCTCTACCAAATTCACCGTATAGTTTGTAGTTAGTTATAATAATAACAGGGTTGACAGCT  
GCTATGTATGAGTGTGGAGGGCACTGGTTCCGTTGTGCAAGGAATGCTTGGCAAAGGCTGGGAAACATG  
AATCCAGAGGTGGCTATGGAGCAGTACGTTGCCCTTGTATCAGATAAAGTCCCTGGTTGGATGGAAGGGA  
AATCTGCTGTAAGTATTTGCCATTGAGGCACAGCATTTGTAGTCCCTGCAGTGATTCTCTATCCCAAAAT  
ATAGTTTCTAGTTAATGTTATGTTGTAGGATGATGACAAGCCAGGATCTTCTGCAGCAGCAAATCCTGGT  
GCTGTGGCTTCAGATTTAAGTACAACCTTCTTCCCATCATCAAAATATTACAGAAGAAAGGTATTTATCAG  
AATTTGTTCAATTTAGTTGTTTCTATTTGACTCATAATGATATGTCTCGTGTCTTGTCTTGTGTTATGT  
ATCATTCTCTGTCAATATTATCTCATGTAGGAACCCAGAAGTGATGCTTGGTATTGAGAAAAATGATTA  
TATTGGCCAAACGTGGAGGATAAG

## Regiões Promotoras das JcACBPs

### JcACBP1

>ref|NW\_023590789.1|:22408408-22409908 *Jatropha curcas* isolate ELGS0001-1231 unplaced genomic scaffold, RJCl\_Hi-C scaffold\_1202, whole genome shotgun sequence (região promotora gene 1 NW\_023590789.1:c22408407-22406192)

TTATCCATAAAAAATATTCCTATGTTCTATTCAGTACGTGGCATCTATATATTTGGTTGGCTGTCTCTGTGG  
TCAAAAAGTTTACTAAGAGTGTACATACATCTGCAATACATTTGGTTTTTAAAAACACAAGAACTGCTT  
TCGATTGACGCTTTGAACATTTTCCGGCTTGAATATATATATATATAAATAAAGCAAAATTTATTATT  
TAGTCCATGAGGTATTGTTGAATACAAC TAGCATGGACTAGTAGAGTAGCTAGGATATTACCTAGAGCCT  
ATTTTAGGTTCCCTTGGGAAAGGAAAGGTGGACAGGCCATTTACCTTCGATAGTAGGCCAGGGAGAAAAG  
CTTGACCCCTGTTACAGTTGCTTTGACCTCTTTTTTCCCTAAGCCTAAGATCTTTTCATCAGGTGGTAGA  
AATCTCCAGGTGGTAGAAATCCTTCCCTATGAATATAGCAGTAGTTGTACCTGTCCAGAAACCATAAAA  
AAGGGATTCTTGTACTAGTGTACAGCGCTTAGACGCAGAAAAATTACACCTTCATAGGGTAGCCTCTTCTA  
TTCCACTATGGCAGTTGTAAGTTGGTAATTGTTAAATGGTTCTCTCTCCATGGCTCTTCCCTGTTCCCTGC  
GCTTGGCAGTTGCATTTAGGAGAGAAATAGGGCAAAGCCAAGACCAACACAAACAAGCAGTGTCTTTTCGC  
GGTGTGAAAAATACGATAGGGCAAGCAGTTTTGACTCTGAGCGGGAAGTGAATCAAGCCCCTTGAGACC  
GTAGAAGTGTTTTTCGTATAGGGAAGTGTGCCTGAGTCTTTGCCCTTCTTCTTTGATAGCCTAGATTTGAG  
TAAGTAGTTTCTGAAATCCCTGACTCAGCATTTGTTTCCCTGGTTCCGGTGTCTAACCAGAAGAGATTATTC  
GATCTTGTGAAAAAAGTTGACCGTCTCATACGTACGATGGAAAGTCTCCTCCTGCTGCTAAATCTTTTT  
CTTTGCTTACTGGTACCAGGGATAATAAATTAATCACTATTCCTCTGAAAGGCCCAAAGGGAGAAGGAC  
TAGAGCCAAAGAGAGAAGCGAAGCCGAAACGACCGATCGAGGGAGCGGCAGCACAAATGAGAAAAA  
CCGGAGCAGAAGCTGAACGACAGAACAGAAGCGGTATTACCTGTGAGATGGGACAATCTCGCGTATAGCA  
GGATATACTCTTCAACGTCCCTATTTATTTTGCCTGACAAAAATGAAGCTCAAAAAAGCTTTGTTTACGT  
TCCCCACAGTCCCAGAGAGATCCATTTCTTACCAGGACATTCCTTCACTAAAACCCAGATTTTTTCT  
TCTGTCCATGGGGTCCCTTTACCCGGAAGTCCGTATACCTAAGACTGGACGCCATAAATCCCAGGTC  
GCGGACTTGTACCTGAGGCGTATAAAGCTTGACGTAAGGTCCGGTTGGCGCCCGTCCCCTGTCGCTTGG  
AGTAACCTCTTATGGACACGAACAGTTTTCT

**JcACBP2**

>ref|NW\_023590682.1|:210911-212424 *Jatropha curcas* isolate ELGS0001-1231  
unplaced genomic scaffold, RJCl\_Hi-C scaffold\_1106, whole genome shotgun  
sequence (região promotora gene 2 - NW\_023590682.1:c210912-202464)

AAAAAAAAATTTGGGAGATCCATGTTTACCTCCCTGATTTTATGATAAATTATGTTTTGCACCTCGGAAAAAA  
TGAAAATTTATTTTTATAGCCCTCGTGGCTTGAGCCCGTAACCGACACTGCCGTTTAGCCATTGTCGTCT  
GGCAGTCCTTTTTGGAGTCGGGTAACCTGAGGATTGACTCTCAGTTTACGTGATTCATATCCGATTTCGAC  
GGATCAAATAAGATTCAGTTTGATTAAAGATGGATCAGAAAATAAATATACACCTACTCGATTGAATCTAT  
TTTAAATTAATTAATTTGTTTTTTTAAATAAGCTCTTTTTAATTATTATATTTTCAATTTGATCAAA  
TCCAACCTTGAAGTGAATCTAAATATGACGCAATTAATTGCAGAGTTATTATTTTCATGGATATTAATTTTT  
CCTTGCATATGAAAATTCGAAATACAAAATGTTGTATTTCGAAATTTACCATATAATATTTAGTATTTTTGAC  
TATTTCTATTATTTTTATAATGTTCTATAGCATAAATTTTTTATTGTTTATAGTATTTAACGGTATAATTT  
ATATTAGTGTATAGAGTTTGAAAAGATTAGATTATAAGATGTTACTCTCTTTAACATTTAATAAAACACTG  
GTCAAATAATTAATAAAAATTTCCATTACAAGAGTCTATTATAAATAAAAATTTATTATGAATAGAATTTA  
TTCTTTAAATAATATTAATTTTCATTTTTATCCATGTGAAAGTTGAAATGAGCTTATTACCGTGTAGAGAG  
GCATACACTATTCAATATTCAAGTTTTTTTATTTCTCGCAATTTTATTTTAGAACATCATATTTGTTGATT  
CAAAAATGTCAAACCTGTTAAATAGTTTTTGAATAATATTTTATATTTTATATTATTTGGTGATTATAAA  
ATTTGACTGCATTATAAATTAAGTGAATTAGAAAATATTTATATTCAGGCTATTAATGTGTTATAGCTTAA  
ATAAACACAATTATCTTATTTTTATTTGAAAAAATTTATTATCACCGATTGTCACAATTCGAATCGGTCGTA  
CGATTGTTTTCTTGAAAATTTATTTATTTTTTTAGAAAAGTGAATTTCTATAGAAAATGTTGAGTTTTTCATAT  
CTAAACATCCCTTGGTAGGAAGTGACAAAAAATAAAAAGGATAATTTTGATTAATTTGATTTTTAATTTAA  
AATAAAAATTTGATAGTTTATTTCAAAAACATTTCTAAAATAGAAGGTGAACACTTTAATTTTTCAATTGAA  
AAGTAATTTTTTATTTTATAAGTTAATTTAAAAATAAGTAGCTAAGTATTTTTGCAAAAATATTTAAAAAA  
TTATTTTTAAATATATAAGTATTTAGTTAATAGGTATTTAGAAC TAGGCAGAAAAGTACTTAAAAATAACA  
GATAATAAAAACAAAGGATTATCTAATGAGTTTGGACTCAATTTAAGTTTTTTTTTTAACTAAGTTATT  
AAATCAAACCTATAAATAATTTCAAAAATTTATTTTAAAAATCGAG

**JcACBP3**

>ref|NW\_023591768.1|:33978-35486 *Jatropha curcas* isolate ELGS0001-1231  
unplaced genomic scaffold, RJCl\_Hi-C scaffold\_977, whole genome shotgun  
sequence (Regiao promotora gene 3 - NW\_023591768.1:35483-37457)

TGAAATATTTATTTTTGATTAAACTATTGATTATCAAACCACTAATTTTTCTTAATTTTTAATAT  
TAGATTATTAATGATATATTCATTATCATTAAATAATTAACTTTTCAAATAAATCATTTCATTATTGTTATAA  
TTTAATTTGTACTATTATGATTACACATTAAGTTCAAGTTATTTAAAATTTTTATTCTAAATTTACATTAT  
AAGATATAATCCTTAACGATTTCAAATTTGAAATTTATTACGTTCAAATAACTTAGTTTTAATAACCGTTCT  
TAGATACGAGATAGCTTCTCCGCGTCTTTATTAACCTTAAAAAATAAATCTGTATGAAAGATAGTACTTT  
CAAAAATCTTATATATCACAGAGATAAAAATATATTTATGAATTTATTTAGTGGATAATATTTTCATATAC  
GCTCTACGTGCTGGTTTTTAAGAAATGCATGTCATCTATATTTGTTTCATATTCGCGATTTAATATTTCTTA  
GTAATAATTTAAATATTAGGATCCTAATTAATTTGTTTTTTGAAAGGGATCCTAATTAATTTAAACATC  
AATCTTCAGTAATATTTATCTTTTTTATTTAAATATTGATATCAAACACTAATTTTTTAATTTTTAATAT  
TAGATATTAATGTTATTTCATTATCATAAATAATTAACCTCAAATAATCATTTCATTATTTGTTATAATTTAA  
TTGTAATATTTATGATTACAATTAAGTTCAAGTATTTAAAATTTTAAATTTCAATTATAAGATATTTAATCCTT  
AAGATTTCAAATTTGAATTTATACGTTCAAATATTTAGTTTTAATAACGTTCTTAGATACGAGATAGCTCTTT  
ATTAACATAAAAAAATAATTTGATGAAAAGATAGTACTTTCAAATCTTATATTCAAGTAATATTTTGCAC  
GTACTGAATATAAAAAATTTATTTTTAAAATTTTTATATAAATTTGAATTTTCATAAAAATCTAGTGTTTAAACTT  
ATAGTTTTTTACTTATGTCCGATTTTACTACTATGTTTTTAAACCGCAAGAAATGCTTTAGATGGATCTTT  
AATTGGGAAGAAATTAACCATCGAATGGACTATACACCAAGAAGTGTACCAGCTAATTTCCAGTAACAAC  
AGCCAGCAATATGGTAGTTAAGATCCTTATATTGTTCTTTTTAATTAATTTGCTTTTTTATTTATTTGTTTTG  
GTCATAAATATTGTCTAACCTATTTAAGCTGCTAATTTTTTTTTTTCTTTGATTACCAAAAAAGCTACTCA  
TAGAAGATATTTGATGACCAAAATGATAAGTTAAATAATTTAGCTTAAAATTTATATTTAATAGAATAAT  
TTAACTAAATTCATATTCAAATTTGATTTAATATAAATAAATTTTATGAATAAAAATATCGGTATATGTAT  
TTACTTTATTGGAATAAATTTAATCGTGTAAAATTAATAATCATAAATGTTCTTTTTTAAGGAGATATAAA  
AAATTTGCTTACTGGTTAGTAATTAGCATCAGAAT

**JcACBP4**

>ref|NW\_023590956.1|:4339461-4340966 *Jatropha curcas* isolate ELGS0001-1231 unplaced genomic scaffold, RJCl\_Hi-C scaffold\_245, whole genome shotgun sequence (região promotora gene 4 - NW\_023590956.1:4340965-4343509)

GAGAAAATAAAATTTGCAAAATTAATTAGTACAAAAATGTAAAAGTTAATGCATAACCTTATATTTAAAAG  
TCATTAGTTAATTAATTTGTCTAATGAATCTTTTAGATTATAAAGGTAAGGTATATTCATTGTAAAGGAA  
ATTGCTAACACGAAAAAAAATAAAATCTTTCTTGTGGATCTGTTGCTTGCTTTGCCACTCGCAGTGGAA  
ATGTCGCAGCAAGGCCAACAGGGACCAAGCTGACTCGGTGAGGCCGATCTGTTGGTGTAGGGGAAAC  
AATTATTAGTAAGTCCATTCAATCGTTTCGGCCATTTTCACTTTTACCTGCGCCTTATATGCTTT  
GGAGAAAATTTTCCAAATTTCTTGATTAATCCATATAATAAATAACAGTGCACATTACTACACACTTG  
AAGAACCAGGTAGAAGAGGAAGCACAGACCCACATGGTTCGGCTATCCCCATCGACCGTCACGTTTATA  
TTGTTCCAAGAAAACGTCGCAACCCAACGACATGTTATCACTGAAGAAAGATGCCTTTACTAGTTTTCCA  
CCGCAACATATATTCCATATAAGGTCGCCAAAGCATCCCGATTTACCACCAAGTGCTCCTAATAGAAGA  
CGCAAGCTTTGGCAGCGAGTGTAAGTAAATTAATAATGGAGAAAATCGTCTCGTCCGATTCACATAGTTC  
TCCACGCGTTTGAGATTGCGATTGCTAACACGGAAAACCTTTTCGTGTGTAAGATTATAACAATGGTGAAT  
TAGAGATGTGTTGATTAGACTACTTTTAGTAAATAAAATTAACGCTCATTTCCCTTGTATTCTAATTGT  
TTTTTATTTATTTATTTTCATGGGTGAATTAATTTTCAAATTAATTAATAATGAGCATTTTAATTAATAAA  
ATTTTATATTCTCTATTTCTTTTCCCTTTTAAATTTAATGTAGTCCCTACTTTTCATCATTTTATAA  
GTTTAATGGCTGAATTATACAATTATTTAATGTGTATTATGTTACTATACCGCAATAATGATATTATTAT  
TATTATTATTATTATTATCTTTTAAAGAATATTATCACCCAATTTCAATGTAATAAAAATATAATT  
ATTGTGGTATAAAAAACAACATTTTCAACAGTATTCAATTGCACAAATAATTCCTCTTTTTTAAATCATA  
AATACTTCCCAATATATAAAAAATGATTAATTTAAATTTAAAGAATATTTTATATTTTTTTCTGATG  
TAAAAATATTAATAATTTTGGCTCACCAAACCTTACAATTTCTCGCAAATGAAGATTGCGACTTGGTCCCT  
AATTCAAAACAGTGTGAAAAAGAAAACCTGCACTAATAAAAAGACTCGCGAGTCGTGACGCGACCCAAAA  
AGAAAAACGAAGCGCGCTACAGCGGCAGGTGAGGTTAAAGGACCATTTATTTATGACTGTTAAACGCAAG  
AAGTCGCCAAGTCGCAAAACCATCGTTGGCTGAT

## Transcritos JcACBPs

### JcACBP1

>XM\_012215123.3 PREDICTED: *Jatropha curcas* acyl-CoA-binding protein (ACBP), mRNA

GTATAAGTGCTTACATGTAAGGAATCCCCTGCCACTCTCGTTGTATAAGTACCACAAGCTCACGCCTTTA  
TTGGCGATACGTTCTATAAAATCAATCAAGAAATTTATCGTCCATCAGATTATTTCTCACATAGCTGCAAAATGG  
GTTTGAAGGAGGAATTTGAGGAGTATGCTGAGAAAGCTAAGACCTTCCGGAAAACACAACAAATGAGAA  
CAAACCTTATTTGTATGGGCTTTTTAAACAAGCCACTGTTGGACCTGTGAACACCAGCCGTCCTGGAATG  
TTCAACATGAGGGACAGAGCAAAGTGGGATGCATGGAAGGCTGTTGAAGGCAAATCTAAGGAAGAAGCAA  
TGAGTGACTATATCACGAAGGTTAAACTGTTGCTGGAAGAAGCTGCAGCAGCGGCTTCCGCTTAGTGTGT  
TGGCCATGCATATGTAAGTGTGTTTCATTATAGTTAAAAAATCAGTTCAATAATGTATCTGGATTTGTA  
ATGCTGATGTTAACTGTGCCCCAATAACTTTTCAGAATTAGTTTATGTACTTTGTACTGCAATGGATTGGAA  
TTAATATGTTGGGATAGTGTCTTCTTTCGCGTGTGCTTGAATTTGCCACTCCTAAGAGGTTGAAGAAGA  
A

### JcACBP2

>XM\_012233639.3 PREDICTED: *Jatropha curcas* acyl-CoA-binding domain-containing protein 4 (LOC105647518), mRNA

TTTTTTCGCCTTTTTTTTCTAAATCAAAATGTAGATATTACCGAGCACAATTAGAGAGAGAAAGGAAGTTAAG  
AAGAGCGAGGATATCCGATTTTCGAGCTTTTACAGAAACAGAAACAAATTTCCAAATCCCAAACCTGGGCCA  
ATACACAAAACCACTAACGTGCCACTTTAATACAAGCTTAAACATTTTTTTATTTTAAACACGCATTTCC  
CTTCGAACCTTGAAACACAAGCATAAACCATAGTCAATTTCTCAGTCTCAAATCAAATCTTAAGTGAGAGA  
GGGCGAGGAGGAGGAATAAATGGCTATGGCGAGGGCAAGTTCTGGCCTCGCATACCCGGAGAGATTCTAT  
CGGCGCCGCGCATACGCTGGATTTGATGGATCTCCAAATTCACCAATATTTGTCTCCTTAAGTTCCAAA  
ACGACACCCGCTTTGCTCCTTTACGCTTGTACCAGCAGGCTACTGCAGGACCATGTAATAACCAAACAAAC  
AAGCACTTGGAAATGCTGTAGAACAAGCAAATGGAAGAGCTGGCATGGGCTTGCCAATATGGCTTCCACT  
GAAGCAATGCGTCTGTTTGTGAAGATATTGGAGGAAGAAGATCCGGGTTGGTATTCTAGAGCATCTAACT  
TTGTTTTAGAGCCTGTTGTAGACGTGCAAAATGAATCATAACTCAAAGTTGAGGCTGTTGTGCGAGAATGG  
AAACTCTTTTCCAGAGACAAAGACCCTTCCAGTGAGAATGGGACTGTCATAGAACTCAGGATAAAGAT  
GTTGTCTCAGAAGGCCCTTGGTTCAGTTGTTGTGTACGATCAATGGATTGCCCCCAATATCTGGCCAAC  
GCCAAAAGCCCGATATGAGCATGATGCGGCTATTATTCAAGACAAGATGTATATATATGGGGGAACCA

CAATGGCCGTTATCTAAATGATCTTCATGTACTGGATTTGAGAAGCTGGGCTTGGTCTAAGGTTGATGCT  
 AAGATTGAGGAAGAGTCGGATGGATCGAAAACCCCTGCTACTATAACTCCTTGTGCTGGCCATTCCCTGA  
 TACCTTGGGAGAATAAGCTTCTAACAATTGCTGGACACACCAAGGATCCTTCTGAATCCATCCAGGTGAA  
 GGTGTTTGGATCCACAACTCGTTGTTGGTCAACGTTAAAGACATATGGGAAAGCTCCGGTCTCACGTGGT  
 GGTCAATCTGTCAGTCTTGTGGGACAAGCTTAGTGATTTTTTGGTGGTCAAGATGCGAAGCGATCTCTTT  
 TGAATGATTTACATATCTTGACCTAGAAACCATGACTTGGGATGAAATTGATGCTATTGGCGTGCCTCC  
 TTCTCCAAGGTCTGATCATGCTGCAGCAGTTCACGCAGAACGCTACCTGCTTATTTTTGGTGGTGGTTCA  
 CATGCTACTTGTTCATGATCTGCACGTGCTTGATTTACAAGCTATGGAATGGACACGACCCACACAAC  
 AGGGGAAATACCAAGTCCACGGGCTGGACATGCAGGTGTGACAGTTGGAGAGAATTGGTTTATTGTTGG  
 TGGTGGTGACAACAAGAGTGGGTCTCTGAAACTGTTGTCTGAACTATGCTACGCTCGTTTGGTCTATC  
 GTGACTTCTGTTGAAGGGCGTGTCTCTTGCCAGTGAGGGCTTGAGTTTGGTCTGAGCTCCTACAGTG  
 GTGAAGATATTCTTGTATCATTTGGGGGATACAATGGACGTTACAGCAATGATGTCAATGTTCTTAAACC  
 AAGCCACAAGTCTACCTTGAATCAAAGATTGTGGAGACTCCAGTGCCCGACAGTGTCTGCTGTACCT  
 AATACTACAAACCTACCAGAGATTTGGAATCTGAGTCGGGCCAAGAAAGCAAAATAAGGGAAATTGTTA  
 TGGATAATGCTGATCCAGAGCCATGAAAACATAAAGAAGAAGTGTCTAGTGAACATATTTTAGCAACCTT  
 AAAGGCAGAGAAAGAAGAACTGGAGTCACTCTTAGCAAGGAGAAATTGCAAACATCAATTAAGCAA  
 GAATTGACTGAAGCAGAGACCCGTAATACTGATCTCTACAAGGAGCTCCAATCTGTGCGTGGTCAACTTG  
 CTGCTGAGCAGTCTAGATGTTTCAAACCTAGAGTTGATGTGGCAGAACTAAGACAAAAGCTTCAAACGAT  
 GGAGGCACTACAAAAAGAACTAGAGCTCCTTCAGCGCCAGAAGGCTGCTTCTGAACAAGCTGCATTAAT  
 GCAAAACAGAGGGAGGGCTCTGGTGGTGTGGGGTTGGCTAGCAGGAACCTCCTGGTAGCCAAAGAAAGG  
 ATGAAGACTGAATTTTTGTCAAAGCCTTGTAAAGTAGTGATTGTTAGATTGGTTTTTCATTGATCAATTTTT  
 CTATCAAAATATTTTTTTGTTTTACTTATCCAGTTCTTTCTTTGATGGGAATAAAAATATCAAGTTTTTG  
 TTGGCCAGATTGAAACCCACTAGGTTTTTGCAGGAATATATGTACTGTAATTGTAAGTTATGTAGTTCT  
 ATGTGGTCATTGCCGCTATATTTTTCTCTCAATTTTACAAAATTTGTATTTGAATTGAATATATAGC  
 TTGAATGAAGTATAGGTTTTTCATTATTTTCCAATCAAA

### JcACBP3

>XM\_012223978.2 PREDICTED: *Jatropha curcas* acyl-CoA-binding domain-  
 containing protein 3 (LOC105639818), mRNA

CAGTGAGGAAGGAGGGGAAAAGTGTGGAGGGAGGGGAAGCTCTGTAATAGCAGTCTTGACCTCTAATT  
 GACAGCTCAGAACTGATGACGCTTCAACCGCTCCGACTCGTCTACCAATAGCGAAAGAGTCATTTTCAG  
 ATACCTTCTTTTCAAACCAATCCAATAATTATACAGCAGGACCGACACATTTCTTAGAATATACTTTGC  
 TCTGTTCTCTTAAATTCACCTTTCTATTTCTTCTGTCGCCTCATCAAATCTCAGATTCGTACTTTCT  
 TTATCGTACTCCTTATCGTGTAATGGCCATGGAGCTTTTCTTTGAATTCCTTTTGACAGTTGCTCTTTCT  
 ATTTTTTGCTCTTTTCTTCTCGCTAAGCTCCTCTCTACAGCAACAGCCAATGATAATGACCATTATTTTG  
 AAAAAACAACCTACCCATTACCTTAAGTTCGAACCGGAGTCTAAAAGTTATCACTTTGAGACGGAAAGGAA  
 ATTTGGGTTTTGTTTTCAAAAATTGTAGGAGTTGATAAATTAGGCGAATCGATGGAGAATAAGTTTACCCAA  
 CAAGAATTATACTCTAATGAAGGTATCAAAATCGTTTTTTCATGTAACCTGAAGATATAAAAACCTGATGTTG  
 ATTTAACAGAGGAAGGTAGTAGAGAAGAAAATGGTTTTGCCAAAATTCGAAGAGAATTCGATTACTAAGAG  
 CGAAACTGAACTGAGATGGGTTTTGATAAAAAGAACAATAAGATTTTGGTAAAAGTGAGATTAACCTTGAA  
 ATTGAGGAGGAGGATGATTGGGAAGGGATAGAAAAGAAGTGAGTTAGAGAAGCTATTTGGTGTGCTGTGG  
 CATTTGTTGGTCTATCAATAATGCTGATAAAAATATTATTGAATATTAACAGTGATTTGAAGCTGAAAT  
 GCATGGACTTCACCAGGTTGCCATTGAAGGGCCTTGCCATGTGCCCTCAACCCAGGCCATTCAAGTTCTCT  
 GCTCGCTCAAAGTGGAATGCATGGCAAAAACCTGGGAACATGAGTCCAGAGGTGGCAATGGAGCAGTATA  
 TCAACCTTGTTTCAAGAAGTATTCCTGGATGGATGAAAGATAATTTTGAGGATCAAGTGAGAAAGTTGCA  
 TGCCTAACCATCCAGGAACCTTGCAGCTTCCAACCTGCCAATGGGGAGGGAGAAGGTATCTTTGAGGATTG  
 GAACTGCGAGCCAGTTAAAGGGAGGATATAGAATAATGTAACCTGAGTAAAAAATAAATAAATAAATAA  
 GCAGTTTTAGGTTCTGTGCAATTCCTCAATTCATGATTCCTCATTGTTTGGGAAAGAAAATATTTGGAT  
 ATATGCTAATTCCTTTCAGAA

### JcACBP4

>XM\_037637675.1 PREDICTED: *Jatropha curcas* acyl-CoA-binding domain-  
 containing protein 3 (LOC105630872), mRNA

TGCGCGCTTTTAGGACGCTCCGTGACTTGCCCAACTCGCCAGCAAGGCGGGACCCACCTCTCTCGCTT  
 CATAATTTAAAGGCGAAAGTAATTTACCAAAGCTAAGAACAGAATATGCTTTGCTCTACCCTGCAAATA  
 TCCCTTCCCTCTCTGCAAAATGATATTTTTCTTCTCTCTTTCTATATCTACTGCTAATTTCTCCTGCTGC  
 TCTTCTCACCTACCGTCATCTTCTTCTGCCACTTTCTTTATCTTTCTATCCATTCTTTAAACAAAGA  
 AACAACCATGGAGCTGCTTCAAGAGTTGTTTGTCCACCGCTTTTGTGCTGTTGTTTGTCTTTTTCTTATC

GCTAAGATTGTTTCTATTGCTATGGCTGGTGGCGATTCTAGCAATGCTTCGCAGTTGTCCAAGAGTCAAA  
 ATGATGATCAGAAAATTACCGGAGATGACGGTGATGAACGTGTCATGGAGGATTTGCGGTATTTTAAAA  
 GCTGAAGGTTGAGGGGTATACGAGTGAGAAGAGAGTGGAAATTTGTTCAAGAAGGTGCACAAAAGGTCGAT  
 GGGTTTGTGGAGGATCGATTGAGGCTGCGGAAGTCGAGAAAATCGGTGAACCGCGATGAAGTAATTGAAA  
 CTGAATGCCGTGAATTGGTAACAATATCAGTCGAAGAAGGTTTGAAGGAAGAGGATAAATCATCGGAGGA  
 TATGTTAGGTAAGTGCGAAGGAGAGTTTCAAGTAAACAGACACGTTGGCGTAGAATTGGCTGATGGTAAG  
 GGTGCTATTGACGAGAAAACAAAGAGGTGTTGATGATAATTTGCTTAAAGAAAACATAGAAATCGAGTCAG  
 TTGGCATAGAATCGTCTGTTAAAAAGGATGCTGTTGAAGAATCTGAGGAGATTCCGGGTTGTGGGGAGTGA  
 AACGATAGAAAAAGGTGAAGAGAGAAAAATAGAGATTGATAGTATGACGATGATTGGGAGGGGATTGAG  
 AGGAGTGAATTTGGATCACGTTTTTGCCTAAGGCAGTTAACTTGGTAGAGTCTGCAGATAAAGATGGAGGCT  
 CGAGAAGTATAGGGAGCGATGTTCAAATGGAACGTATGGGCTTCAAGGTTGGCTACTGAGGGGCCTTG  
 CCGCGAGCAGCCGCTTTGCCTCTTAAAGTCGCTGCTCGGGCCAAGTGGAAATGCTTGGCAAAGGCTGGGA  
 AACATGAATCCAGAGGTGGCTATGGAGCAGTACGTTGCCCTTGTATCAGATAAAGTCCCTGGTTGGATGG  
 AAGGGAAAATCTGCTGATGATGACAAGCCAGGATCTTCTGCAGCAGCAAATCCTGGTGTGTGGCTTCAGA  
 TTTAAGTACAACCTCTTCCCATCATCAAAAATATTACAGAAGAAAGGAACCCAGAAGTGATGCTTGGTATT  
 GAGAAAAATGATTATATTGGCCAAAACGTGGAGGATAAGGTTAAAGAATGATGAACATTTCTATGCCGCT  
 TGACCTTCCCAACCACCGTGGCCATTCTCCATTTGCACCACCACAAGAAGTTAGAGACCAGTTCTCATTT  
 TCAAGTATAAAAAAATTTGCTTCAAGTAAGTTCTTGGCTGCTTATACTATCATTTGTTTGTCTACTA  
 GCTGTATTGTCTAAAGGATGTGTGGTAATCAGAACACGTTGATGTATGGTGTATCTCCTTTTATGTAAT  
 ACCTAATGCATTTCCCTTAATTTGCCACCTGGATGGTTGAGATTGTCAAAAATACATATGATAATGGTGAC  
 CCTTATTTCTCAAAAACGTATGTTTTTTTATTGGGTTGCTGCTGTTGAATTCCTTTGTTATTTTAGTCTCCTG  
 AAATAACGTGAAGCAATAGTGGAAATACGTGAAGTAATATGCAAGAGAGTTGCAACTTTGGTAGAAATTG  
 TTATTATTGGTCAAAAACTTGATACTATGCAGGAGTCGGGCAGGCAGTACCCCTTACGTTTACAATTTGA  
 CAGTTCGATGGTCCAAG

## Sequências de Aminoácidos JcACBPs

### JcACBP1

>XP\_012070513.1 acyl-CoA-binding protein [Jatropha curcas]  
 MGLKEEFEEYAEKAKTLPENTTNNENKLILYGLFKQATVGPVNTSRPGMFNMRDRAKWDAAWKAVEGKSKEE  
 AMSDYITKVKLLLEEEAAAAASA

### JcACBP2

>XP\_012089029.1 acyl-CoA-binding domain-containing protein 4 [Jatropha curcas]  
 MAMARASSGLAYPERFYAAAAAYAGFDGSPNSTNIVSSKFQNDTALLLYALYQQATAGPCNTPPKPSTWNAV  
 EQSKWKSWHGLANMASTEAMRFLVKILEEEDPGWYSRASNFVSEPVVDVQMNHNSKVEAVVENGENSFPET  
 KTTSSENGTVIETQDKDVVSEGLGSVVVYDQWIAPPISGQRPKARYEHDAAI IQDKMYIYGGNHNGRYLN  
 DLHVLDRSWAWSKVDAKIEEESDGSKTPATITPCAGHSLIPWENKLLTIAGHTKDPSESIQVKVFPDQT  
 RCWSTLKYGKAPVSRGGQSVSLVGTSLVIFGGQDAKRSLLNDLHILDLETMTWDEIDAIGVPPSPRSDH  
 AAAVHAERYLLIFGGGSHATCFNDLHVLDLQAMEWTRPTQQGEIPSPRAGHAGVTVGENWFI VGGGDNKS  
 GVSETVVLNMSTLVWSIVTSVEGRVPLASEGLSLVSSYSGEDILVSFGGYNGRYSNDVNVLPKPSHKSTL  
 QSKIVETPVPDSVSAVPNTTNPTRDLESESGQESKIREIVMDNADPEPMKTKEEVSSEHILATLKAKEKE  
 LESSLSKEKLQTHQLKQELTEAETRNTDLYKELQSVRGQLAAEQSRCFKLEVDVAELRQKLQTMALQKE  
 LELLQRQKAASEQAALNAKQREGSGGVWGWLAGTPGSQRKDED

### JcACBP3

>XP\_012079368.1 acyl-CoA-binding domain-containing protein 3 [Jatropha curcas]  
 MAMELFFEFLLTVALSIFCSFLLAKLLSTATANDNDHYFEKTTTHYLKFEPEESKSYHFETERKFGFVSKI  
 VGVDKLGESMENKFTQQEELYSNEGIKSFFHVTEEDIKTVDVLTTEEGSREENGLPKFEENSITKSETETEMG  
 LIKEQIDFGKSEINLEIEEEDDWEGERSELEKLFGAAVAFVGSINNADKILLNINSDLKLHLGLHQVA  
 IEGPCHVPQPRPFKFSARSKWNAWQKLGNSPEVAMEQYINLVSRSPGWMKDNFEDQVRKLHA

### JcACBP4

>XP\_037493603.1 acyl-CoA-binding domain-containing protein 3 [Jatropha curcas]

MELLQELFVTAFFVAVVCSFLIAKIVSIAMAGDSSNASQLSKSQNDDQKITGDDGDERVMEDLRYFEKLL  
VEGYTSEKRVEFVQEGAQKVDGFVGGSEAAEVEKSVNRDEVIEETECELVTISVEEGLKEEDKSSDML  
GKCEGEFQVNRHVGVELADGKGAIDEKQRGVDDNLLKENIEIESVGISSVKKDAVEESEIRVVGSETI  
EKGEKKIEIDSDDDDWEGIERSELDHVFKAVALVESADKDGGSRSIGSDVQMELYGLHKVATEGPCRE  
QPPLPLKVAARAKWNAWQRLGNMNPEVAMEQYVALVSDKVPGWMEGKSADDDKPGSSAAANPGAVASDLS  
TTSSHQNI TEERNPEVMLGIEKNDYIGPNVEDKVKE

**Tabela Sup. 1:** Elementos cis regulatório presente na região promotora dos JcACBPs.

<b>CIS ELEMENTOS PRESENTES NA REGIÃO PROMOTORA JcACBP1</b>		
<b>nome</b>	<b>função</b>	<b>nº elementos</b>
A-box	elemento regulador de atuação cis	2
AAGAA-motif	parte de um módulo para resposta à luz	1
ABRE	elemento de ação cis envolvido na capacidade de resposta ao ácido abscísico	2
ABRE3a	elemento de ação cis envolvido na capacidade de resposta ao ácido abscísico	1
ABRE4	elemento de ação cis envolvido na capacidade de resposta ao ácido abscísico	1
ARE	elemento regulador de ação cis essencial para a indução anaeróbica	2
AT~TATA-box		7
Box 4	parte de um módulo conservado de DNA envolvido na capacidade de resposta à luz	1
CAAT-box	elemento de ação cis comum em regiões promotoras e potenciadoras	11
CCAAT-box	Local de ligação MYBHv1	1
CCGTCC motif		2
CCGTCC-box		2
CGTCA-motif	elemento regulador de atuação cis envolvido na capacidade de resposta do MeJA	2
G-box	elemento regulador de ação cis envolvido na capacidade de resposta à luz	1
GATA-motif	parte de um elemento responsivo à luz	1
GCN4_motif	elemento regulador cis envolvido na expressão do endosperma	1
LTR	elemento de ação cis envolvido na capacidade de resposta a baixas temperaturas	1
MBS	Local de ligação MYB envolvido na indutibilidade à seca	3
MRE	Local de ligação MYB envolvido na capacidade de resposta à luz	1
MYB	fator de transcrição MYB	2
MYB recognition site		1
MYB-like sequence		1
MYC	fator de transcrição MYC	2
Myb	fator de transcrição MYB	3
TATA-box	elemento promotor central em torno de -30 do início da transcrição	24
TCCC-motif	parte de um elemento responsivo à luz	1
TGA-box	parte de um elemento responsivo à auxina	1
TGA-element	elemento responsivo a auxina	2
TGACG-motif	elemento regulador de atuação cis envolvido na capacidade de resposta do MeJA	2
Unnamed__1		1
Unnamed__4		9
W box	Ferimento e resposta a patógenos	3
WRE3	Ferimento e resposta a patógenos	3

as-1                      resposta à seca                      2

<b>CIS ELEMENTOS PRESENTES NA REGIÃO PROMOTORA JcACBP2</b>		
<b>nome</b>	<b>função</b>	<b>nº elementos</b>
ABRE	elemento de ação cis envolvido na capacidade de resposta ao ácido abscísico	1
ABRE3a	elemento de ação cis envolvido na capacidade de resposta ao ácido abscísico	1
ABRE4	elemento de ação cis envolvido na capacidade de resposta ao ácido abscísico	1
ATCT-motif	parte de um módulo conservado de DNA envolvido na capacidade de resposta à luz	1
AT~TATA-box		1
Box 4	parte de um módulo conservado de DNA envolvido na capacidade de resposta à luz	6
CAAT-box	elemento de ação cis comum em regiões promotoras e potenciadoras	30
CGTCA-motif	elemento regulador de atuação cis envolvido na capacidade de resposta do MeJA	1
ERE	elemento responsivo ao etileno	4
G-box	elemento regulador de ação cis envolvido na capacidade de resposta à luz	1
GATA-motif	parte de um elemento responsivo à luz	1
MYC	fator de transcrição MYC	3
O2-site	elemento regulador de ação cis envolvido na regulação do metabolismo da zeína	1
TATA		5
TATA-box	elemento promotor central em torno de -30 do início da transcrição	67
TGACG-motif	elemento regulador de atuação cis envolvido na capacidade de resposta do MeJA	1
Unnamed__1	Local de ligação à proteína 60K	2
Unnamed__4		3
Unnamed__6		1
W box	Ferimento e resposta a patógenos	1
as-1	resposta à seca	1

<b>CIS ELEMENTOS PRESENTES NA REGIÃO PROMOTORA JcACBP3</b>		
<b>nome</b>	<b>função</b>	<b>nº elementos</b>
ABRE	elemento de ação cis envolvido na capacidade de resposta ao ácido abscísico	3
ABRE3a	elemento de ação cis envolvido na capacidade de resposta ao ácido abscísico	2
ABRE4	elemento de ação cis envolvido na capacidade de resposta ao ácido abscísico	2
ACE	elemento de ação cis envolvido na capacidade de resposta à luz	1
ARE	elemento regulador de ação cis essencial para a indução anaeróbica	2
AT~TATA-box		3
Box 4	parte de um módulo conservado de DNA envolvido na capacidade de resposta à luz	7

CAAT-box	elemento de ação cis comum em regiões promotoras e potenciadoras	33
ERE	elemento responsivo ao etileno	4
G-box	elemento regulador de ação cis envolvido na capacidade de resposta à luz	2
GATA-motif	parte de um elemento responsivo à luz	1
GT1-motif	elemento responsivo à luz	1
MYB	fator de transcrição MYB	2
MYB-like sequence		1
MYB binding site		1
O2-site	elemento regulador de ação cis envolvido na regulação do metabolismo da zeína	1
TATA		1
TATA-box	elemento promotor central em torno de -30 do início da transcrição	50
TC-rich repeats	elemento de atuação cis envolvido na defesa e na capacidade de resposta ao estresse	1
Unnamed__1	Local de ligação à proteína 60K	1
Unnamed__4		2

#### CIS ELEMENTOS PRESENTES NA REGIÃO PROMOTORA JcACBP4

nome	função	nº elementos
AAGAA-motif	parte de um módulo para resposta à luz	1
ABRE	elemento de ação cis envolvido na capacidade de resposta ao ácido abscísico	1
ARE	elemento regulador de ação cis essencial para a indução anaeróbica	1
AT1-motif	parte de um módulo responsivo à luz	1
AT~TATA-box		1
Box 4	parte de um módulo conservado de DNA envolvido na capacidade de resposta à luz	3
CAAT-box	elemento de ação cis comum em regiões promotoras e potenciadoras	31
CAT-box	elemento regulador de ação cis relacionado à expressão do meristema	1
CGTCA-motif	elemento regulador de atuação cis envolvido na capacidade de resposta do MeJA	2
DRE core		1
G-Box	elemento regulador de ação cis envolvido na capacidade de resposta à luz	1
G-box	elemento regulador de ação cis envolvido na capacidade de resposta à luz	2
GARE-motif	elemento responsivo à giberelina	2
GT1-motif	elemento responsivo à luz	1
LTR	elemento de ação cis envolvido na capacidade de resposta a baixas temperaturas	1
MYB	fator de transcrição MYB	4
MYC	fator de transcrição MYC	2
Myb-binding site		3
STRE	Elemento de resposta ao estresse	1

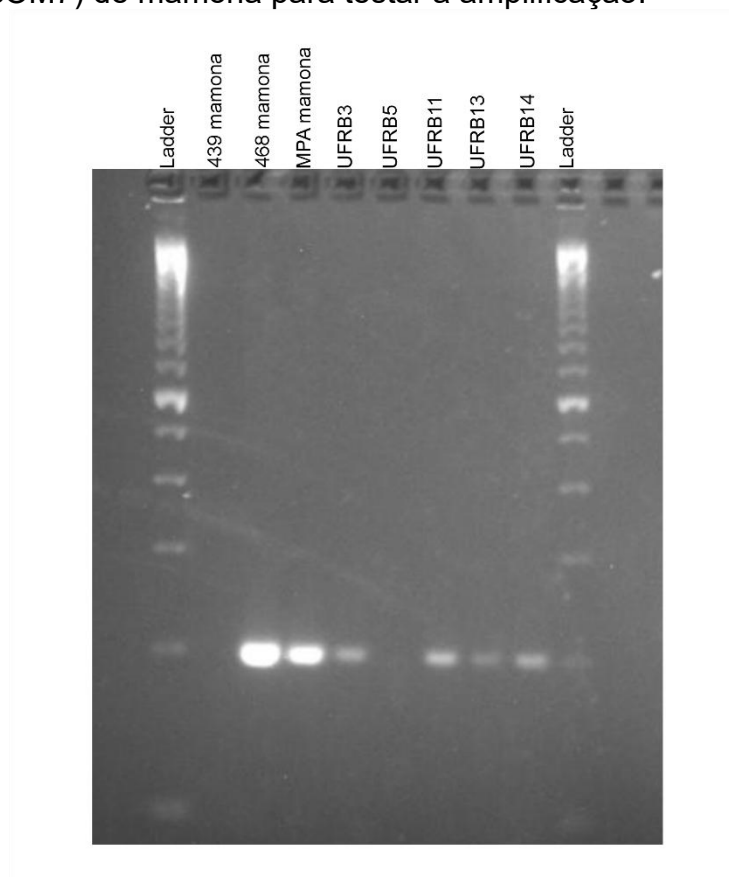
TATA		3
TATA-box	elemento promotor central em torno de -30 do início da transcrição	44
TCT-motif	parte de um elemento responsivo à luz	1
TGA-element	elemento responsivo a auxina	1
TGACG-motif	elemento regulador de atuação cis envolvido na capacidade de resposta do MeJA	2
Unnamed__1		1
Unnamed__2		1
Unnamed__4		4
WUN-motif	Ferimento e resposta a patógenos	2
as-1	resposta à seca	2

---

**Tabela Sup. 2:** Genes envolvidos nas redes de interação proteína-proteína (PPI) preditas para as JcACBPs em *Jatropha curcas*, identificados a partir da análise no banco de dados STRING. a) JcACBP1; b) JcACBP2; c) JcACBP3; d) JcACBP4.

<b>a)</b>	<b>PREDICTED FUNCTIONAL PARTNERS</b>
<b>ACBP</b>	<b>ACB domain-containing protein - JcACBP1</b>
JCGZ_07264	peroxisomal fatty acid beta-oxidation multifunctional protein AIM1
JCGZ_18897	glyoxysomal fatty acid beta-oxidation multifunctional protein MFP-a
JCGZ_20790	beta-ketoacyl-acp synthase III
FATA	acyl-[acyl-carrier-protein] hydrolase; plays an essential role in chain termination during de novo fatty acid synthesis;
JCGZ_10037	long chain acyl-CoA synthetase 2
JCGZ_12221	acyl-coenzyme A oxidase; belongs to the acyl-CoA oxidase family
JCGZ_24996	acyl-coenzyme A oxidase 4, peroxisomal
PPF-ALPHA	pyrophosphate-fructose 6-phosphate 1-phosphotransferase subunit alpha; regulatory subunit of pyrophosphate-fructose
PPF-BETA	pyrophosphate-fructose 6-phosphate 1-phosphotransferase subunit beta; catalytic subunit of pyrophosphate-fructose 6
LPAT	1-acyl-sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase 2
<b>b)</b>	<b>PREDICTED FUNCTIONAL PARTNERS</b>
<b>JCGZ_23327</b>	<b>ACB domain-containing protein - JcACBP2</b>
JCGZ_11305	UPF0235 protein At5g63440
JCGZ_21572	low-temperature-induced cysteine proteinase
JCGZ_12447	ervatamin-B
JCGZ_16099	low-temperature-induced cysteine proteinase
JCGZ_22120	cysteine proteinase RD21A
JHL12I08.3	-
JCGZ_25380	rac-like GTP-binding protein RHO1
JCGZ_21505	rac-like GTP-binding protein RAC13
JCGZ_14659	-
JCGZ_18817	rac-like GTP-binding protein 5
<b>c)</b>	<b>PREDICTED FUNCTIONAL PARTNERS</b>
<b>JCGZ_12508</b>	<b>ACB domain-containing protein - JcACBP3</b>
JCGZ_03431	peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase 1
JCGZ_06416	3-ketoacyl-CoA thiolase 2, peroxisomal
JCGZ_17571	3-ketoacyl-CoA thiolase 2, peroxisomal
JCGZ_18519	-
JCGZ_08950	acetyl-CoA acetyltransferase, cytosolic 1
JCGZ_23558	peroxisome biogenesis protein 12
JCGZ_05346	peroxisome biogenesis protein 3-2
JCGZ_12221	acyl-coenzyme A oxidase
JCGZ_24073	acyl-coenzyme A oxidase 2, peroxisomal
JCGZ_03402	peroxisome biogenesis protein 19-2
<b>d)</b>	<b>PREDICTED FUNCTIONAL PARTNERS</b>
<b>JCGZ_16049</b>	<b>ACB domain-containing protein - JcACBP4</b>
JCGZ_03431	peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase 1
JCGZ_06416	3-ketoacyl-CoA thiolase 2, peroxisomal
JCGZ_17571	3-ketoacyl-CoA thiolase 2, peroxisomal
JCGZ_18519	-
JCGZ_08950	acetyl-CoA acetyltransferase, cytosolic 1
JCGZ_23558	peroxisome biogenesis protein 12
JCGZ_05346	peroxisome biogenesis protein 3-2
JCGZ_12221	acyl-coenzyme A oxidase
JCGZ_24073	acyl-coenzyme A oxidase 2, peroxisomal
JCGZ_03402	peroxisome biogenesis protein 19-2

**Figura Sup. 1:** Controle positivo de qualidade do DNA de pinhão manso usando um primer SSR (RcOM7) de mamona para testar a amplificação.



**Figura Sup. 2:** Gráfico Ramachandran das proteínas JcACBPs modeladas por homologia no Swiss Model. a) JcACBP1; b) JcACBP2; c) JcACBP3; d) JcACBP4.

