

**019 - CLONAGEM, EXPRESSÃO E PURIFICAÇÃO DE UMA NOVA DEFENSINA DE CAFÉ (*Coffea arabica*) (CD1) E SUA ATIVIDADE CONTRA O FUNGO FITOPATOGÊNICO (*Fusarium solani*) [Cloning, expression and purification of a new defensin (CD1) from coffee (*Coffea arabica*) and its activity against phytopathogenic fungi (*Fusarium solani*)]**

Souza, E.S.C.<sup>1</sup>; Vasconcelos, E.A.R.<sup>2</sup>; Gatehouse, J.A.<sup>3</sup>; Silva, M.S.<sup>4</sup>; Grossi-de-Sá, M.F.<sup>5</sup>

A infecção por fungos e bactérias induz nas plantas a síntese de uma importante classe de peptídeos relacionados à defesa, dentre eles uma classe denominada Defensinas, com ação antifúngica e/ou antibacteriana. Estes peptídeos contém de 29 a 34 aminoácidos, são ricos em cisteína e arginina e apresentam massa molecular de 3,5 à 9 kDa. Este trabalho consiste na clonagem, expressão heteróloga em levedura (*Pichia pastoris*) e purificação de uma nova defensina (CD1), oriunda do café (*C. arabica*), que se mostrou ativa contra o fungo fitopatogênico *F. solani*. A partir da biblioteca do Projeto Genoma Café (Embrapa/Unicamp - <http://www.lge.ibi.unicamp.br/cafe>) foi selecionado um clone contendo a read CA00-XX-RT5-011-B03-JM.F, anotada como Coffee Defensin 1 (CD1). A sequência codificadora da região madura de CD1, contida no read, foi subclonada no vetor pGAPZα-B para expressão constitutiva em *P. pastoris*. Duas construções gênicas foram estabelecidas: uma delas contendo uma sequência codificadora de uma “cauda” de histidina na região C-terminal do peptídeo (CD1tC); e uma outra cuja proteína resultante possuiria a “cauda” de histidina na região N-terminal (CD1tN). A expressão foi realizada em frascos contendo 1 litro de meio YPG e as proteínas heterólogas foram purificadas por cromatografia de afinidade em coluna de níquel. Ambas as formas da proteína recombinante mostraram atividade inibitória do crescimento micelial de *F. solani* a uma concentração de 2 µg/µL.

Apoio: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e Embrapa Cerrados.

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Faculdades Anhanguera JK, Embrapa Cerrados-CPAC

<sup>2</sup>Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB/Faculdades Anhanguera JK

<sup>3</sup>Biólogo, Ph.D., Durham University-UK

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Cerrados-CPAC

<sup>5</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia