

O gene antifúngico PR-5 isolado de *Solanum nigrum*, expresso em *Escherichia coli*, purificado e reenrolado: uma versão potente contra oomicetos e ascomicetos

Campos, MA¹; Silva, MS²; Magalhães, CP³; Ribeiro, SG³; Del Sarto, RP⁴; Cruz, CCM³; Monte, DC³; Grossi de Sá, MF³

¹ Universidade Federal de Lavras; Departamento de Biologia, Caixa Postal 3037, 37200-000 - Lavras MG, Brasil;

² EMBRAPA Cerrados, BR020 Km 18, PO Box 08223, 73310-970 - Planaltina DF, Brasil;

³ EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, PO Box 02372, 70770-900 - Brasília DF, Brasil;

⁴ Universidade de Brasília, Departamento de Biologia Celular, PO Box 90710-900 - Brasília DF, Brasil

As proteínas relacionadas à patogênese (PR) estão envolvidas nas respostas das plantas ao estresse biótico e abiótico e são agrupadas em 17 famílias (PR1-PR17). A família PR-5, também conhecida como osmotina, compreende várias proteínas com diferentes funções, incluindo atividade antifúngica *in vitro* e *in planta* confirmada para a maioria delas. Um gene PR-5 foi isolado por PCR a partir do genoma da espécie negra (*Solanum nigrum* L. var. *Americanum*), uma planta daninha solanácea. A proteína madura prevista tem 207 aminoácidos de comprimento e contém 16 cisteínas envolvidas em 8 ligações dissulfureto. Este gene foi denominado *Solanum nigrum* proteína semelhante à osmotina (SnOLP). A fim de investigar e caracterizar a atividade antifúngica da proteína SnOLP, uma forma de SnOLP madura marcada com His foi superexpressa na cepa de *Escherichia coli* M15 realizada por uma construção de vetor pQE30. A proteína SnOLP madura, marcada com His solubilizada, foi purificada por afinidade por cromatografia em coluna de afinidade com níquel immobilizado. A renaturação mediada por redução: tampão redox glutatona oxidado gerou conformações biologicamente ativas do SnOLP maduro recombinante, que exerceu ação antifúngica em relação ao ascomiceto patogênico da planta e anamoriou os fungos *Fusarium solani* f. sp. *glicinas*, *Colletotrichum gossypii* var. *cefalosporioides*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Macrophomina phaseolina* e contra a planta Oomycete *Phytophthora nicotiana* var. *parasitica*, sob condições *in vitro*. A inibição *in vitro* do crescimento micelial destes patógenos economicamente importantes de soja, algodão, citrato e citros, mesmo em doses baixas de SnOLP (faixa de 1 - 3 µg), é um indicativo de que o SnOLP representa uma versão potente do *Solanum* PR selvagem. A proteína com utilidade promissora em aplicações biotecnológicas.