

Análise *in silico* da expressão gênica de citocromo p450 relacionada ao metabolismo de diterpenos em *Coffea*

Ivamoto, ST^{1,3}; Pot, D²; Ferreira, LP³; Alves, LC⁴; Domingues, DS⁴; Vieira, LGE⁴; Pereira, LFP⁵

¹Programa de Mestrado em Genética e Biologia Molecular, Universidade Estadual de Londrina, Londrina-PR

²Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), Montpellier-França

³Centro de Genética Biologia Molecular e Fitoquímica, Instituto Agronômico de Campinas, Campinas-SP

⁴Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Instituto Agronômico do Paraná, Londrina-PR

⁵EMBRAPA-Café, Brasília-DF

suzanatiemi@yahoo.com.br

Palavras-chave: Coffea, diterpenos, cafestol, caveol, Cyt P450

O Brasil é o maior produtor e exportador de café mundial, além de possuir o segundo maior mercado consumidor. Estudos para melhorar geneticamente a qualidade da bebida e resistência da planta são cada vez mais frequentes e de fundamental importância. Os diterpenos presentes na fração lipídica do grão de café, como o cafestol e o caveol, estão diretamente ligados tanto a propriedades nutracêuticas da bebida como a mecanismos de defesa da planta. O estudo dos genes que controlam a biossíntese dos diterpenos são importantes para compreender as vias metabólicas e as enzimas que controlam o acúmulo/degradação dos mesmos. Os genes da cyt P450 são de uma família multigênica, cujos muitos membros estão envolvidos no metabolismo secundário das plantas, inclusive na síntese de diterpenos. O presente trabalho visa identificar e caracterizar *in silico* genes de citocromo P450 (Cyt P450) a partir de seqüências ESTs disponibilizadas em projetos de transcriptoma do cafeeiro, com ênfase na identificação de genes candidatos envolvidos no metabolismo de cafestol e caveol. Foram selecionadas 1396 seqüências, provenientes do projeto brasileiro Genoma Café, disponibilizado no banco de dados do LGE Campinas (<http://www.lge.ibi.unicamp.br/cafe>) e da Universidade de Cornell (LIN *et al.*, 2005). Foram formados 92 contigs e 65 singlets, utilizando-se o programa Codon Code Aligner. Os 92 contigs analisados por BLAST X contra bancos de dados de seqüências públicos (GenBank e HarvEST Coffea), confirmando-se para 91 contigs sua identidade com genes de Cyt P450. A análise *in silico* por Northern eletrônico revelou níveis e perfis de expressão específicos para cada um dos contigs, permitindo assim a seleção de alguns genes candidatos para análises transcricionais baseados nas diferenças de expressão entre bibliotecas de cDNA com diferentes tecidos (flor, fruto, folha, raiz, etc), e também sob diferentes condições fisiológicas (estressados e não stressados). O presente estudo serve de plataforma para a análise de expressão de cyt P450 candidatas em amostras de RNA de tecidos contrastantes para acúmulo de caveol e cafestol, além de frutos tratados com metil jasmonato, por diferentes metodologias, como o microarranjo (NimbleGen) e por RT-PCR. Apoio financeiro: CNPq e CBP&Café