

22^o Encontro de
Iniciação Científica
da UENF14^o Circuito de
Iniciação Científica
do IFFluminense10^a Jornada de
Iniciação Científica
da UFF

IX

Congresso
Fluminense de
Iniciação Científica e
Tecnológica

II

Congresso
Fluminense de
Pós-Graduação17^a Mostra de
Pós-Graduação
da UENF2^a Mostra de
Pós-Graduação
do IFFluminense2^a Mostra de
Pós-Graduação
da UFF

Ciência, tecnologia e inovação no Brasil: desafios e transformações

Purificação e avaliação da atividade antimicrobiana da defensina de planta *PvD₁* sobre o crescimento de *Candida tropicalis*

Evillyn Jacinto Tofanelli, Erica de Oliveira Mello, Gabriel Bonan Taveira, André de Oliveira Carvalho, Valdirene Moreira Gomes

As defensinas de plantas são peptídeos catiônicos que apresentam peso molecular de aproximadamente 6 kDa, contendo de 45 a 54 resíduos de aminoácidos, com um domínio característico de oito resíduos de cisteínas formando quatro pontes dissulfeto. Tem carga líquida positiva em pH fisiológico, e mostram clara, embora limitada, conservação de sequência. Em 2008, foi caracterizada por Games e colaboradores, uma nova defensina extraída de sementes de *Phaseolus vulgaris*, denominada *PvD₁*. Com o objetivo de purificar a defensina *PvD₁* e avaliar sua atividade inibitória em combinação com as drogas comerciais (Fluconazol e Anfotericina B), sobre o desenvolvimento da levedura *Candida tropicalis*, foi realizada a extração da “farinha” dessas sementes por precipitação salina em tampão fosfato. A partir de cromatografia em coluna DEAE-Sephrose, foram obtidos 2 diferentes picos denominados D1 e D2. A fração D1, não retida, foi submetida a eletroforese em gel de tricina, que revelou a presença de duas bandas, uma de 6 kDa e uma de 26 kDa. O pico não retido D1 foi submetido a Cromatografia em coluna C2C18 em HPLC, dois picos foram coletados, um em 25min e outro em 36min. As frações foram submetidas a eletroforese em gel de Tricina para confirmar a retenção da defensina *PvD₁*, que pode ser observada na fração de 25min. Esta fração foi então dialisada, liofilizada e submetido a ensaios de inibição de crescimento utilizando-se as concentrações de 100, 150 e 200 µg/ml de *PvD₁* e 1×10^4 células.mL⁻¹ de levedura incubadas em 100 µL de caldo Sabouraud. O ensaio foi realizado em placas de cultura de células (96 poços), em triplicata, incubadas a 30 °C por 24 h. Os resultados demonstraram a inibição de praticamente 100% do crescimento fúngico em todas as concentrações testadas, o que confirma os resultados observados anteriormente por Mello et al., (2011). Os próximos passos consistem na avaliação do efeito causado pela defensina *PvD₁* em combinação com Fluconazol e Anfotericina B sobre o crescimento da levedura *C. tropicalis* em diferentes dosagens, bem como se há permeabilização da membrana, indução de estresse oxidativo e formação de H₂O₂.

Palavras-chave: Defensinas de plantas, *PvD₁*, antifúngico.

Instituição de fomento: FAPERJ, CNPq, CAPES, UENF.