



Atividade antifúngica de cistatinas isoladas de sementes de *Clitoria fairchildiana* R. Howard

Dayanni de Souza Padua, Olga Lima Tavares Machado, Valdirene Moreira Gomes, Antonia Elenir Amancio Oliveira, Kátia Valevski Sales Fernandes.

Introdução: As fitocistatinas são inibidores competitivos e reversíveis de proteases cisteínicas das classes da papaína e catepsinas B, L, H, que em geral apresentam entre 12-16 kDa. No entanto, fitocistatinas entre 20-25 kDa já foram relatadas, bem como cininogênios-símile, com ≥ 80 kDa. Esses inibidores têm a capacidade de interferir com o crescimento de fungos fitopatogênicos, sugerindo potenciais antimicrobianos. **Objetivos:** Avaliar os efeitos e mecanismo de ação de cistatinas isoladas de sementes de *C. fairchildiana* sobre o desenvolvimento e crescimento de fungos patogênicos a animais e plantas, estabelecendo assim os seus potenciais biotecnológicos como pesticidas. **Metodologias:** As proteínas de sementes foram despigmentadas com metanol 80% e extraídas com tampão fosfato de sódio 0,1 M/NaCl 0,5 M pH 7.6, submetidas a precipitação com sulfato de amônio (intervalos de 0-60% e 60-90% de saturação), submetidas à ensaio de atividade de inibição da papaína (protease controle), cromatografia de fase reversa HPLC-C18, quantificadas e visualizadas por eletroforese. A confirmação da natureza proteica de fitocistatina isolada foi feita por zimografia reversa. **Resultados e discussão:** As frações obtidas por precipitação com sulfato de amônio (F0-60%, F60-90% e Sob II) foram submetidas a ensaios de atividade inibitória de papaína. Sob II apresentou maior atividade inibitória específica (UI) (F0-60: 1,50 UI / μg de proteína, F60-90: 1,40 UI / μg , Sob II: 3,03 UI / μg). Foram observadas bandas de proteína entre 12 e 14 kDa no Sob II e este foi submetido a cromatografia de fase reversa (HPLC-C18). Foram observados três picos principais (P1, P2, P3). O pico P2 apresentou os níveis mais elevados de UI e mostrou uma proteína em torno de 12 kDa. A natureza de cistatina da proteína isolada foi confirmada por zimografia reversa. A amostra com a proteína isolada está sendo testada em sua capacidade de inibir fungos fitopatogênicos. **Conclusão:** A presença de inibidores de proteases cisteínicas foi constatada no extrato bruto das sementes de *C. fairchildiana*, na fração Sob II, e a principal cistatina isolada mostrou-se uma banda de cerca de 12kDa.

Palavras-chave: Fitocistatina, *Clitoria fairchildiana*, Antifúngica.

Instituição de fomento: CAPES, FAPERJ, UENF