

Isolamento e Caracterização estrutural e funcional de cistatinas de sementes de *Clitoria fairchildiana*

IZABELA DE QUEIROZ PONTES

As cistatinas são proteínas que podem desempenhar várias funções em plantas, indo desde reguladores endógenos até participantes em processos de transdução de sinais celulares e interação tecidual. Seu principal papel, no entanto, está relacionado a mecanismos de defesa de plantas contra predadores. O objetivo deste trabalho é o isolamento e caracterização de inibidores de sementes de *C. fairchildiana* e avaliação de uma provável interferência dessas proteínas isoladas no processo de germinação de sementes, usando-se, para tal, sementes de soja como modelo. As sementes de *C. fairchildiana* foram maceradas e sua farinha foi submetida a processo de despigmentação e posterior extração proteica. O extrato bruto (EB) foi fervido, dialisado e liofilizado. Depois o teor proteico de EB foi medido pelo método de BCA, revelando um teor de 475 µg de proteína/mg de amostra. Para o isolamento de cistatinas foi utilizada uma coluna de exclusão molecular, em Sephadex G-100. O EB foi aplicado na coluna e frações coletadas foram avaliadas em espectrofotômetro a 280nm. O processo de purificação de cistatinas das sementes continua em andamento. Experimento piloto de germinação de sementes quiescentes de soja foi realizado, onde 20 sementes foram mantidas em câmara de germinação a 28° C, em fotoperíodo de 12 h luz/12 h escuro. As sementes foram selecionadas em 6, 12, 24, 36, 48, 60 e 72 h após embebição (HAE) e foram medidas e pesadas, antes de dissecadas em seus tecidos constituintes: tegumentos, cotilédones e eixos embrionários. Os tecidos foram triturados sob nitrogênio líquido e a farinha resultante foi pesada e estocada. Depois de obtidas as farinhas, estas foram tratadas com metanol 80%. Foi feita a extração de proteínas de cada tecido separadamente. Atividade proteolítica de proteases da classe cisteínica nestas amostras protéicas foi investigada, por eletroforese em gel de poliacrilamida (15%) na presença de SDS, contendo gelatina. Este experimento revelou atividade de proteases cisteínicas apenas em tegumentos em todos os tempos e uma mais alta atividade em 48 HAE; nenhuma atividade foi detectada nos demais tecidos. A perspectiva futura é repetir esse experimento de germinação de sementes de soja, incorporando à água de embebição tanto concentrações crescentes de proteínas do EB de sementes de *C. fairchildiana*, como as cistatinas isoladas dessas mesmas sementes, para avaliar prováveis interferências destes inibidores no evento germinativo das sementes-modelo de soja.

Palavras-chave: Cistatina. *Clitoria fairchildiana*. Proteases cisteínicas.