



Purificação e caracterização parcial de cistatinas de *clitoria farchildiana*

Dayanni de Souza Pádua, Lucilene Ollivier de Oliveira,
Kátia Valevski Sales Fernandes

RESUMO

Cistatinas são proteínas que inibem proteases cisteínicas, presentes em vertebrados, invertebrados e plantas. Tais proteínas são candidatas a agentes terapêuticos no tratamento de doenças fúngicas animais e na defesa de plantas contra predadores, devido sua capacidade de inibir o crescimento de fungos e a digestão de insetos fitófagos. Como a relação de especificidade proteína x organismo-alvo é muito alta, nosso trabalho tem como principal objetivo isolar e caracterizar cistatinas de *C. farchildiana* para testar seu potencial antimicrobiano e biopesticida. Metodologia Farinha de cotilédones de *C. farchildiana* foi despigmentada com metanol 80% (1:5 p/v; 15 min) e submetida à extração de proteínas com tampão fosfato de sódio 0,1M NaCl 0,5M, pH 7,6 (1:10 p/v), por 90 min. O sobrenadante da centrifugação (12.000 xg, 15 min), ou extrato bruto (EB), teve seu teor protéico medido, segundo Bradford (1976). O EB foi sujeito à cromatografia de exclusão molecular em Sephadex G-100, equilibrada com fosfato de sódio 100mM, pH 7,6. As frações foram lidas em espectrofotômetro a 280nm e sujeitas a ensaio de atividade de inibição de papaína (protease controle), segundo Michaud et al. (1990). No presente trabalho, após submetermos o extrato bruto de *C. fairchildiana* a uma cromatografia de exclusão molecular foram identificados 4 picos protéicos, referidos como P1, P2, P3 e P4, que apresentaram os seguintes teores protéicos (P1 = 0,67 µg/µl; P2 = 0,15 µg/µl; P3 = 0,032 µg/µl; P4 = 0,027 µg/µl). Quanto à atividade inibitória da papaína os picos 3 e 4 apresentaram o maior potencial inibitório. De acordo com o ensaio de quantificação do teor protéico, os picos têm uma baixa concentração de proteínas sendo necessárias varias cromatografias de exclusão molecular para acúmulo de material para aplicar em uma coluna cromatográfica de afinidade. A presença de inibidores de proteases cisteínicas foi detectada nos cotilédones da semente *C. airchildiana*. O processo de purificação, em curso, sugere a existência de diferentes isoformas, de diversas massas moleculares. Uma cromatografia de afinidade em CnBr-Sepharose CM-papaína será usada como próximo passo de purificação.

Palavras-chave: Cistatinas, *Clitoria fairchildiana*, biopesticidas, bioprogucidas.

Instituição de fomento/apoio: FAPERJ / CNPq.

**IV Congresso
Fluminense
de Iniciação
Científica
e Tecnológica**

17º Encontro de IC da UENF
9º Circuito de IC da IFF
5ª Jornada de IC da UFF



Bioquímica