



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

Izabela de Queiroz Pontes, Dayanni dos Santos Pádua, Gustavo Lemos Rocha, Kátia Valevski Sales Fernandes

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 poli(acrilamida) (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.