



PIBITI/CNPq/UFCA 2012-2013

## EXPRESSÃO DA PROTEÍNA PAOLP RECOMBINANTE EM *PICHIA PASTORIS* E AVALIAÇÃO DE SUA ATIVIDADE BIOLÓGICA CONTRA FUNGOS E OOMICETOS

Cristianne Costa A. de Souza<sup>1</sup>, Magnólia de Araújo Campos<sup>2</sup>.

### RESUMO

Os sistemas heterólogos de expressão de proteínas permitem que as suas atividades sejam comprovadas bem como servem como estratégia biotecnológica para a produção em larga escala de proteínas antibióticas com aplicações no controle de patógenos de plantas e humanos. Em nosso laboratório foi isolado um gene do tipo PR-5 de *Physalis angulata* que codifica uma proteína antifúngica, denominada PaOLP. Neste trabalho apresentamos a continuidade da subclonagem do gene *PaOLP* mutado em vetor pPICZ $\alpha$ -A e a subclonagem em vetor pGAPZ $\alpha$ -A para expressão em *Pichia pastoris*. A subclonagem em vetor pPICZ $\alpha$ -A não foi confirmada após sequenciamento do clone selecionado, assim como a subclonagem em pGAPZ $\alpha$ -A não foi bem sucedida. Embora não tenha sido realizado e analisado a expressão heteróloga com o gene recombinante pPICZ $\alpha$ -A/*PaOLP*, as etapas de expressão propostas no projeto PIBIT/CNPq/UFCA 2012-2013 foram realizadas como treinamento utilizando a clonagem padrão da Embrapa Cenargen do gene de defensina de ervilha (*Pisum sativum*) denominado Drr230a. A expressão da defensina foi obtida de forma satisfatória e a produção de proteína madura de fusão foi confirmada por meio de Western blot, o que proporcionou grande aprendizagem, sem perdas para a formação do bolsista.

**Palavras-chave:** proteína antimicrobiana, genes PR-5, proteína recombinante.

### ABSTRACT

Heterologous systems for protein expression allow that their activities be proven as well as represent a biotechnological approach to production of in large-scale of proteins with antibiotic applications aiming control of plant pathogens of humans. In our laboratory was isolated a PR-5-like gene from *Physalis angulata* that encodes an antifungal protein, denominated PaOLP. In this work it was reported the subsequent steps to subcloning of the mutated *PaOLP* gene in pPICZ $\alpha$ -A vector and into pGAPZ $\alpha$ -A vector in order to expression in *Pichia pastoris*. Subcloning into a vector pPICZ $\alpha$  could not be confirmed after sequencing of selected clones, an also the subcloning into a pGAPZ $\alpha$  was not successful. Although it has not been performed and analyzed the heterologous gene expression of the recombinant pPICZ $\alpha$ -A/*PaOLP*, the steps proposed in the design of speech PIBIT/CNPq/UFCA 2012-2013 were carried out as training using standard cloning Embrapa Cenargen defensin of the gene from pea (*Pisum sativum*) known as Drr230a. Expression of this defensin was obtained in a satisfactory manner and the production of mature fusion protein was confirmed by Western blot analysis, which provided great learning, without losses to the formation of the grantee.

**Keywords:** antimicrobial protein, PR-5 genes, recombinant protein.

<sup>1</sup> Aluna do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Unidade Acadêmica de Saúde, UFCA, Cuité, PB, E-mail: cris\_cas18@hotmail.com

<sup>2</sup> Biologia Molecular, Professor. Doutor, Unidade Acadêmica de Educação, UFCA, Cuité, PB, E-mail: magnoliaacp@ufca.edu.br