



**XIV Seminário de Iniciação Científica**  
**Universidade Federal de Juiz de Fora**  
15 a 17 de outubro de 2008



Área: Ciências Biológicas

Projeto: PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS: FONTES ALTERNATIVAS DE DEFENSINAS POR BIBLIOTECA SUBTRATIVA DE CDNA

Orientador: Marcelo De Oliveira Santos

Bolsistas:

Talita Diniz Melo (XX BIC)

Ana Paula Do Nascimento Duque (XX BIC)

Participantes:

Resumo:

Os AMPs são pequenas seqüências de peptídeos que constituem a primeira etapa de defesa dos organismos contra a invasão de patógenos. Os mecanismos geralmente propostos para a atividade destes peptídeos envolvem a alteração da membrana celular pela formação de poros ou por outros tipos de perturbação à estrutura da membrana. Os genes que codificam proteínas antifúngicas vêm sendo utilizados na agroindústria para modificação e melhoramento de plantas resistentes ao ataque de fungos. Essas proteínas também estão sendo testadas por indústrias farmacêuticas, com o intuito de se obter novas drogas que poderão ser utilizadas no combate a infecções humanas causadas por fungos. O objetivo do presente projeto é isolar genes diferencialmente expressos entre flores e folhas de *Lippia sidoides* a fim de conhecer o transcriptoma dessas flores e identificarmos genes codificadores de AMPs, com expressão diferencial, através da construção de uma biblioteca subtrativa de cDNA. Dessa forma poderemos utilizar estes AMPs no combate principalmente do fungo *Botrytis cinerea* que ataca muitas lavouras, como a de morango. Os genes pertencentes as flores (tester) diferencialmente expressos, quando comparados aos genes presentes nas folhas (driver), foram amplificados. Após duas reações de PCR as seqüências não diferenciais foram suprimidas e subtraídas, de maneira que o produto do PCR continha apenas cDNA de flores diferencialmente expressos. Pouco foi subtraído nas duas hibridizações, supostamente devido à proporção de mRNA. A população de RNAtotal possivelmente gerou um número maior de hibridizações do que o desejado, não sendo o cDNA restante composto apenas de cDNA diferencialmente expresso. O produto de PCR foi ligado ao vetor pGEMTeasy e transformado em linhagem de células competentes. Foi realizada a extração plasmidial de alguns clones isolados, com posterior quantificação e digestão com EcoRI para liberar o inserto do plasmídeo. O intuito dessa digestão foi assegurar, antes do seqüenciamento, quais os clones receberam o inserto com o cDNA diferencialmente expresso de flores de *L. sidoides*. Entretanto, ainda não foram obtidas seqüências correspondentes ao cDNA obtido pela biblioteca SSH de *L. sidoides*. O estudo segue em andamento. Novas estratégias de ampliações serão traçadas, a fim de se obter produtos de PCR SSH correspondentes as AMP's; bem como a confirmação da sua atividade antifúngica.