

XVIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFJF

Grande área:

Ciências Biológicas

Projeto:

EXPRESSÃO DO PEPTÍDEO ANTIMICROBIANO PGAMP1 EM E. COLI E EM MORANGUEIROS TRANSGÊNICOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Autores:

RENATA MENDES DE FREITAS (XIV PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA 2011-2012)

JOÃO VITOR PAES RETTORE (XIV PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA 2011-2012)

LETICIA STEPHAN TAVARES

OCTÁVIO LUIZ FRANCO

MARCELO DE OLIVEIRA SANTOS (ORIENTADOR)

Resumo:

Os peptídeos antimicrobianos (AMPs) são moléculas que atuam em uma ampla gama de mecanismos de defesa selecionados para combater bactérias, fungos, parasitos e vírus. O impacto da crescente resistência de microrganismos a medicamentos e a substâncias específicas tem movimentado vários grupos de pesquisa. A respeito dos microrganismos patogênicos, a maior preocupação é o surgimento de cepas resistentes aos antimicrobianos disponíveis. O *Staphylococcus aureus* é um dos microrganismos mais comumente encontrados em hospitais e um dos principais agentes causadores da infecção hospitalar. A resistência microbiana a drogas é um problema complexo, uma vez que consiste no produto de um processo natural e, muito mais que isso, essencial, não somente para a origem, como também para a evolução dos seres vivos. Devido à presença de vários resíduos de aminoácidos básicos, os AMPs são positivamente carregados e interagem com a membrana celular dos patógenos, podendo formar poros ou romper a bicamada lipídica. Com este trabalho, mostramos a atividade do peptídeo antimicrobiano recombinante Pg-AMP1, expresso em um sistema heterólogo em *Escherichia coli*, contra linhagens Gram-positivas e Gram-negativas. A partir da sequência de aminoácidos do peptídeo isolado, inicialmente, de sementes de goiaba (*Psidium guajava*) o gene correspondente ao peptídeo foi usado para expressão em *E. coli* BL21 (DE3) e um cassete de expressão foi sintetizado contendo o gene do Pg-AMP1, sob controle do promotor T7 Lac Operon e clonado em pUC18 e uma cauda de histidina fusionada ao gene permitindo a purificação por cromatografia de afinidade. A estrutura do Pg-AMP1 contém 186pb de codificação, com 62 resíduos de aminoácidos. O ponto isoelétrico (PI) do peptídeo foi 6,64 e massa molecular de 7,4KDa. O peptídeo purificado foi expresso em maior quantidade na sua fração solúvel após passarem por ação de lises enzimática e mecânica, assim como dos tampões de ligação e eluição. O Pg-AMP1 mostrou atividade antimicrobiana inibitória contra bactérias

Gram-negativas (*E.coli*, *Klebsiella pneumonia* e *Pseudomonas aeruginosa*) e Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *S. epidermides*) com um MIC (concentração inibitória mínima) de 14.2 segundo protocolo da NCCLs. A ação do peptídeo recombinante Pg-AMP1 contra estas bactérias patogênicas humanas confirmam a ação de um possível composto para atuar contra estes microorganismos, sendo uma ferramenta promissora para o desenvolvimento de novos compostos bioativos.