



B0281

CATABOLISMO DE CAFEÍNA EM PLANTAS DE CAFÉ: EVIDÊNCIAS DA PARTICIPAÇÃO DE CITOCROMO-P450

Igor Cesarino (Bolsista PIBIC/CNPq) e Prof. Dr. Paulo Mazzafera (Orientador), Instituto de Biologia - IB, UNICAMP

Todos os compostos envolvidos nas vias de síntese e degradação de cafeína em café já foram elucidados, além da maioria das enzimas participantes. Entretanto, as atividades das enzimas que realizam as demetilações da cafeína até a formação de xantina ainda não foram detectadas. Em animais a demetilação da cafeína é realizada por enzimas do grande grupo dos citocromos P450. A partir dessa informação e de evidências indiretas conseguidas a partir de ensaios com inibidores específicos de citocromo P450, procurou-se no banco de dados do Projeto Genoma Café informações sobre seqüências relacionadas a enzimas do grupo das P450, com particular atenção a FMOs. As seqüências de interesse foram então utilizadas para a produção de primers específicos para 5 vetores diferentes: pET28, pET29, pET32, pSV282 e pETSUMO. A realização dos processos de clonagem e expressão com 5 vetores diferentes permitirá a comparação e escolha do sistema de expressão mais eficiente para a proteína em questão. Para determinar a melhor temperatura de anelamento dos primers, realizou-se uma PCR com gradiente térmico, cuja variação de temperatura foi de 46°C a 68°C. Ao final desta etapa de testes, o objetivo é iniciar a clonagem e expressão da proteína, bem como testar sua possível função na degradação de cafeína.

Catabolismo - Cafeína - Citocromo P450