



B0336

CARACTERIZAÇÃO DA PROTEÍNA INDUTORA DE NECROSE E DE PRODUÇÃO DE ETILENO NEP3 DO BASIDIOMICETO MONILIOPTHORA PERNICIOSA, AGENTE CAUSADOR DA VASSOURA-DE-BRUXA EM THEOBROMA CACAO

Gustavo Pereira de Almeida (Bolsista FAPESP) e Prof. Dr. Francisco Javier Medrano Martin (Orientador), Instituto de Biologia - IB, UNICAMP

A Vassoura-de-bruxa causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa* em *Theobroma cacao*, impactou a economia cacaueteira e ainda não existem medidas eficazes para a solução do problema. Um sintoma característico dessa doença em etapas avançadas é a necrose dos tecidos. Foram identificadas no genoma do fungo *M. perniciosa* três seqüências (MpNEP1,2 e 3) codificadoras de proteínas NEP1-like, indutoras de necrose e de produção de etileno. Diferentemente das proteínas MpNEP1 e MpNEP2, amplamente estudadas, a MpNEP3 teve sua seqüência completa obtida recentemente. O objetivo deste trabalho é a clonagem, expressão e purificação da MpNEP3 para posteriores estudos funcionais e estruturais. O gene foi amplificado, subclonado no vetor pGEM T-Easy e parcialmente seqüenciado. O inserto foi posteriormente clonado em diferentes vetores de expressão (pProEX-1, pET28a, pET29a, pGEX 4T-3 e pTYB-11) usados na transformação de linhagens de *E. coli* DH5 α e BL21 (DE3) para testes de indução e solubilidade da proteína. De todas as construções e condições de expressão testadas, só a expressão da proteína do gene clonado em pTYB-11 nas linhagens star e pT-GROE resultou na forma solúvel (cerca de 30%) e será utilizada para verificação da atividade biológica em plantas. Tal estudo pode ajudar no entendimento do papel desta classe de proteínas na progressão da doença.

Nep3 - Vassoura-de-bruxa - Necrose