

Expressão heteróloga de um efector de *Phakopsora pachyrhizi* em *Komagataella phaffii*

Camila Aparecida Martins ¹; Thays Vieira Bueno ¹; Luciano Gomes Fietto¹.

¹ Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular (DBB), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, Brasil

E-mail: camila.a.aparecida@ufv.br

ODS 12: Produção e consumo sustentáveis

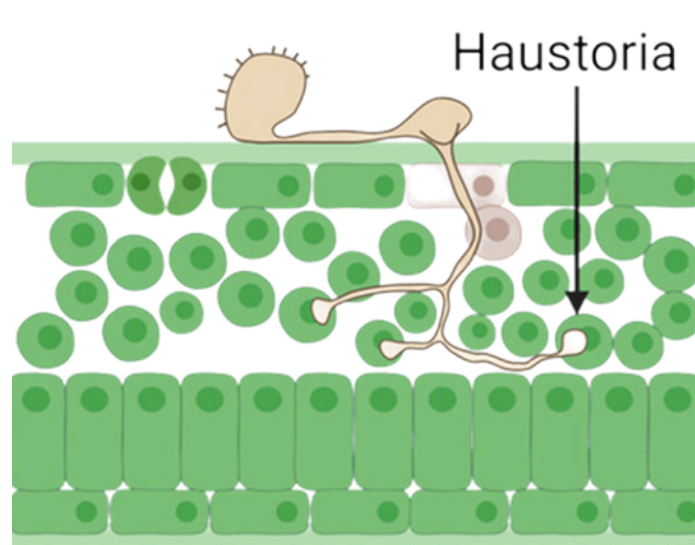
Categoria: Pesquisa

Introdução



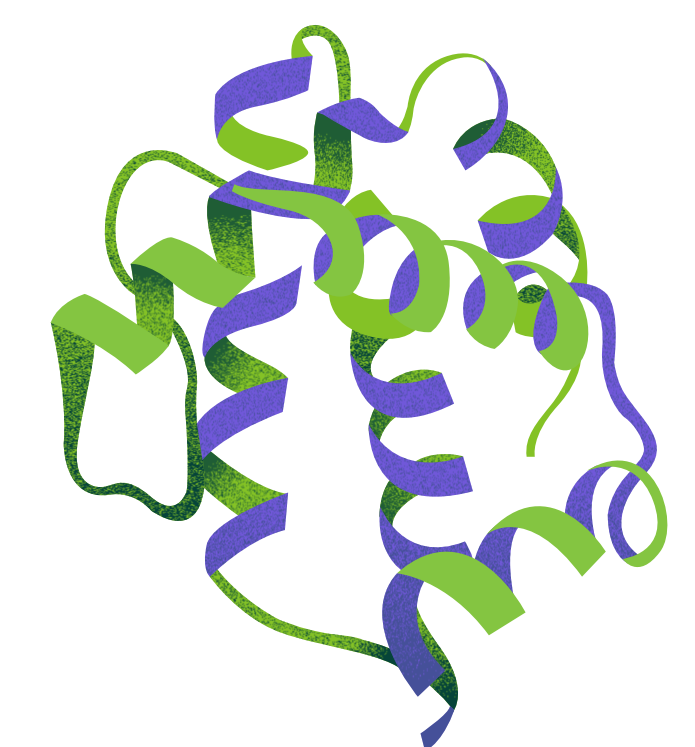
A ferrugem asiática da soja, causada pelo fungo biotrófico *Phakopsora pachyrhizi*, é uma doença devastadora e que leva à perdas significativas [1].

Figura 01: Infecção por *Phakopsora pachyrhizi*.



O *P. pachyrhizi* consegue induzir uma suscetibilidade por efetores (ETS), por meio da formação de haustórios, onde secreta proteínas importantes para a sua sobrevivência e nutrição na planta hospedeira [2].

Figura 02: Formação do haustório para secreção de efetores .



Esses efetores são proteínas pequenas, ricas em ligações de sulfeto entre resíduos de cisteína, que podem suprimir o sistema de defesa vegetal promovendo a instalação e sobrevivência do patógeno na planta [3].

Objetivo

Expressar de forma heteróloga o efector 3939 (Phapa-7431740) de *P. pachyrhizi*, em sistema de levedura, para estudos de estrutura e de interação com proteínas da soja.

Metodologia

Construção do gene

Transformação em *Escherichia coli* DH5a

Confirmação com EcoRI/BamHI

Caracterização

Expressão do efector

Transformação em *K. phaffii* KM71

Apoio Financeiro



Resultados

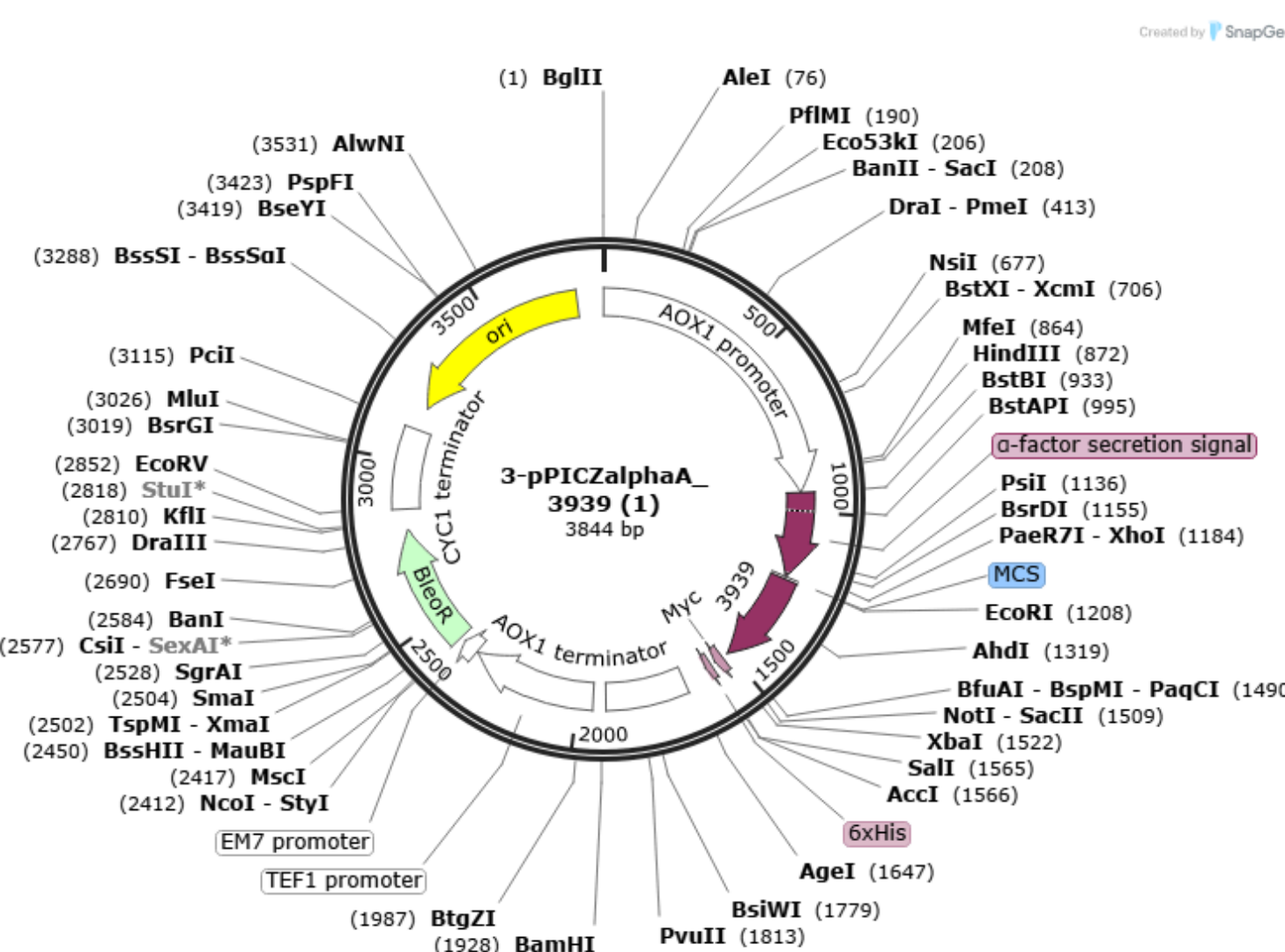


Figura 03: Mapa do vetor pPICZαA com o gene de interesse. O tamanho total do vetor é 3844 bp e o inserto de 377 bp. Resultados da predição mostraram que a sequência codificadora da proteína possui 121 aminoácidos e peso molecular estimado de 12,66 kDa. Observou-se também a presença de 11 resíduos de cisteínas (9%), além de um motivo FxC e domínio EGF com capacidade de ligação ao cálcio.

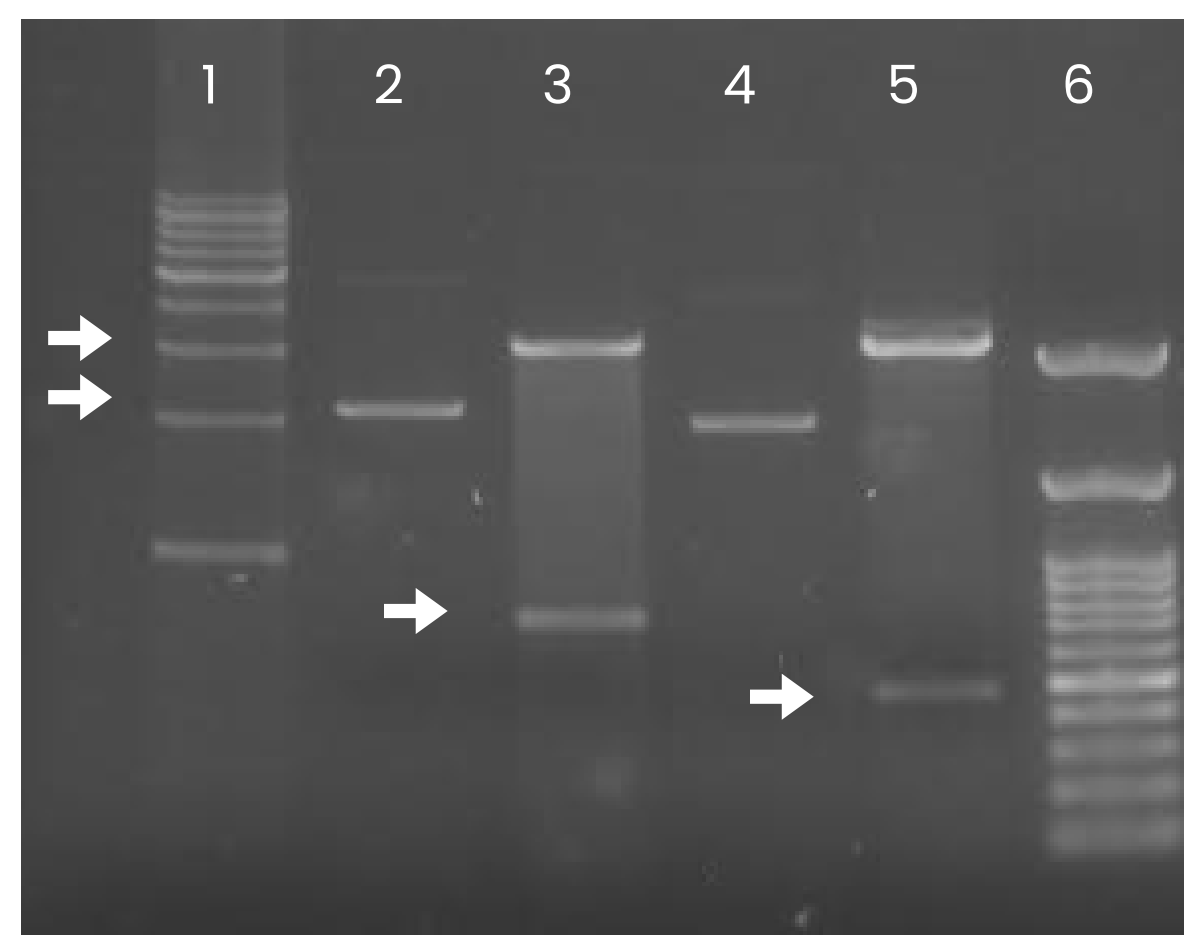


Figura 04: Confirmação de transformação em *E. coli* DH5a com as enzimas de restrição EcoRI/BamHI. 1: Marcador de peso molecular 1KB; 2: miniprep DH5a_3939; 3: digestão DH5a_3939 com enzimas; 4: miniprep DH5a_pPICZαA; 5: digestão DH5a_pPICZαA com enzimas; 6: marcador de peso molecular 100 bp.

Conclusões

O gene do efector 3939 foi clonado em *E. coli* DH5a e confirmado por digestão com EcoRI/BamHI. O próximo passo é a transformação em *K. phaffii* KM71 para obtenção da proteína e posterior caracterização.

Bibliografia

[1] GODOY, C.V.; SEIXAS, C.D.S; SOARES, R.M.; MARCELINO-GUIMARÃES, F.C.; MEYER, M.C.; COSTAMILAN, L.M. Asian soybean rust in Brazil: past, present, and future. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 407–421, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000500002>

[2] CHICOWSKI, A.S.; BREDOW, M.; UTIYAMA, A.S.; MARCELINO-GUIMARÃES, F.C.; WHITHAM, S.A. Soybean-Phakopsora pachyrhizi interactions: towards the development of next-generation disease-resistant plants. **Plant Biotechnology Journal**, v. 22, n. 2, p. 296–315, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1111/pbi.14206>.

[3] BUENO, T.V.; FONTES, P.P.; ABE, V.Y.; UTIYAMA, A.S.; SENRA, R.L.; OLIVEIRA, L.S.; SANTOS, A.B.; FERREIRA, E.G.C.; DARBEN, L.M.; OLIVEIRA, A.B.; ABDELNOOR, R.V.; WHITHAM, S.A.; FIETTO, L.G.; MARCELINO-GUIMARÃES, F.C. A Phakopsora pachyrhizi effector suppresses PAMP-triggered immunity and interacts with a soybean glucan endo-1,3-β-glucosidase to promote virulence. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 35, n. 9, p. 779–790, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1094/MPMI-12-21-0301-R>.

Agradecimentos

