

ISOLAMENTO DE UM cDNA DE CATALASE DE CAFÉ

Leandro E.C. Diniz¹, Ney S. Sakiyama¹, Sandra Noir², Diana Fernandez², Philippe Lashermes².

¹ Universidade Federal de Viçosa, Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro, BIOAGRO, 36571-000 Viçosa, MG, Brasil.

² IRD, Genetrop BP64501, 34394 Montpellier Cedex 5, França.

Resumo

Uma biblioteca de cDNA de “Caturra” foi utilizada para se isolar fragmentos de genes associados à resistência, através da hibridização com sondas RGA. Após a utilização das nove famílias RGA de café, 32 colônias foram isoladas e seqüenciadas. Destas, 25 seqüências não apresentaram similaridade com outras seqüências disponíveis na base de dados do NCBI ou não puderam ser seqüenciadas. Seis amostras continham seqüências muito pequenas e não confiáveis, e apenas uma amostra resultou em uma seqüência de 428 nucleotídeos (142 aminoácidos). Esta seqüência apresentou alta homologia a catalases de outras plantas como *Nicotiana plumbaginifolia*, *Glycine max*, *Phaseolus vulgaris*, entre outras. A esta catalase descoberta em café foi dado o nome de Cat-C. A catalase de ligação ao ácido salicílico (SR1) e a seqüência parcial de aminoácidos da proteína de ligação ao ácido salicílico (SABP), ambos de *N. tabacum*, apresentaram 82% e 77% de identidade, respectivamente, quando comparadas a Cat-C. Na região C-terminal desta catalase foi detectada a presença de uma seqüência peroxissomal. No entanto, ao invés de uma seqüência SRL (Serina-Arginina-Leucina), foi encontrada uma seqüência TRL (Treonina-Arginina-Leucina). Esta diferença é devido à troca de uma timina por uma adenina. Estes dados sugerem que Cat-C pode estar associado ao mecanismo de resistência em café.

Palavras-Chave: Catalase, resistência, sondas RGA, café, biblioteca de cDNA.

ISOLATION OF A COFFEE CATALASE cDNA

Abstract:

A “Caturra” cDNA library was used to isolate fragments of genes associated with the resistance, through the hybridization using RGA probes. This genes are normally found in clusters with others resistance genes. After the use of the nine coffee RGA families, 32 colonies were isolated and sequenced. Among these, 25 sequences either did not present similarity with other available sequences in the NCBI data base or could not be sequenced. Six samples contained very small and not trustable sequences, and just one sample resulted in a sequence of 428 nucleotides or 142 aminoacids. This sequence presented high homology to catalases of other plants such as *Nicotiana plumbaginifolia*, *Glycine max*, *Phaseolus vulgaris*, etc. To this discovered coffee catalase was given the name of Cat-C. The salicylic acid receptor (SR1) and the partial sequence of aminoacids of the salicylic acid binding protein (SABP), both in *Nicotinana tabacum*, showed 82% and 77% of identities, respectively, when compared with Cat-C. In the C-terminal region of this catalase was detected the presence of a peroxisomal sequence. However, instead of a SRL sequence (Serine-Arginine-Leucine), a TRL sequence was found (Treonine-Arginine-Leucine). This difference is due to the change of a timine by an adenine. These data suggest that Cat-C can be associated with resistance mechanism in coffee.

Key Words: Catalase, resistance, RGA probes, coffee, cDNA library.

Introdução

O ácido salicílico (SA – Salicylic Acid) é um componente fundamental nas vias de transdução de sinal, levando à ativação de respostas de defesa em plantas após o ataque do patógeno. Algumas evidências sugerem que ele tem um papel chave na ativação de certas respostas de defesa em várias espécies de dicotiledôneas, como por exemplo, na correlação do aumento do nível endógeno de SA com a indução de genes PR (proteína relacionada à patogênese) e ao desenvolvimento de resistência em tabaco (*Nicotiana tabacum*) e pepino (Malamy et al., 1992). Diversos estudos identificaram várias proteínas, incluindo ascorbato peroxidase (APX) e catalase, através da qual o ácido salicílico poderia agir (Du e Klessig, 1997).

Para elucidar os mecanismos através do qual o SA induz as respostas de defesa, diversas proteínas foram identificadas em tabaco. A primeira, chamada proteína de ligação ao ácido salicílico (SABP – Salicylic Acid Binding Protein) mostrou ser uma catalase que se liga de maneira reversível ao ácido salicílico (Conrath et al., 1995). SA e alguns de seus análogos inibem a atividade da catalase na degradação de H₂O₂ enquanto análogos biologicamente inativos não inibem (Durner e Klessig, 1996). Deste modo, pode-se verificar que a inibição mediada pelo ácido salicílico poderia estar associada a um aumento nos níveis de H₂O₂ observada durante a resposta de hipersensibilidade (HR) (Chen et al., 1993). Também foi visto que o aumento da quantidade de SA após a infecção pelo patógeno poderia inibir a atividade da catalase, produzindo níveis elevados de H₂O₂, podendo ativar certas respostas de defesa, incluindo a expressão do gene PR (Slaymaker et al., 2002).

A catalase (CAT) é um dos principais sistemas enzimáticos para a remoção de H₂O₂ das células das plantas (Willekens et al., 1995). Um modelo foi proposto no qual o SA liga-se e inativa as enzimas CAT, resultando em um aumento de H₂O₂ intracelular que em troca age como um indutor dos genes de defesa do tipo PR-1 (Durner e Klessig, 1996). O modelo foi inicialmente desenvolvido para explicar a indução da SAR mediada por SA (Dorey et al., 1998). Alguns trabalhos, porém, mostram que em tecidos que apresentam resistência sistêmica adquirida (SAR), o H₂O₂ pode agir estimulando a resposta ao SA (Neuenschwander et al., 1995). Além disso, análises de plantas de tabaco geneticamente modificadas com atividade de CAT severamente reduzida revelou que a redução da CAT por si, não foi um sinal suficiente para a indução de PR-1, e que

uma expressão rápida e forte de PR-1 necessitava de ácido salicílico e ocorria somente quando folhas desenvolviam os sintomas da necrose (Chamnonpol et al., 1998).

A catalase (H_2O_2 oxidoreductase, EC 1.11.1.6) é uma proteína heme que catalisa a conversão do peróxido de hidrogênio formado pela superóxido dismutase em oxigênio e água, processo este muito importante para respostas ao estresse, mas também ocorre também devido a senescência (Natvig et al., 1996). Em plantas, a catalase está envolvida na eliminação de H_2O_2 , a qual é gerada durante a foto-respiração e a P-oxidação de ácidos graxos (Morita et al., 1994). Muitas plantas superiores têm isoformas múltiplas da catalase. A catalase de milho, por exemplo, é codificada por três genes distintos cuja expressão é regulada diferencialmente em resposta a mudanças na fase do desenvolvimento ou nas condições ambientais (Scandalios, 1990). Duas isozimas da catalase de algodão também exibem diferentes padrões de expressão (Ni e Trelease, 1991).

O aumento da atividade de enzimas oxidativas, como a lipoxigenase e a peroxidase, de enzimas da via dos fenilpropanóides, como por exemplo a fenilalanina amônia-liase, e proteínas relacionadas com a patogenicidade (β -glucanases e quitinases) têm sido também associados à expressão da resistência do cafeeiro a doenças como a ferrugem, por exemplo (Guerra-Guimarães et al., 2001; Silva et al., 2001a, b; Silva et al., 2002).

Utilizando métodos de hibridização por supressão subtrativa (Diatchenko et al., 1996) foram obtidas bibliotecas de cDNA de café enriquecidas com seqüências especificamente expressadas durante a HR (Fernandez et al., 2001a, b; Fernandez et al., 2003). Alguns clones foram selecionados por hibridização diferencial com sondas complexas de cDNA geradas de grupos de mRNA resistentes e susceptíveis. Sessenta por cento dos clones seqüenciados mostraram alta similaridade com seqüências de planta em bancos de dados, e a metade deles com proteínas cujo papel em reações de defesa de plantas foi sugerido ou demonstrado como quitinases, proteínas de choque térmico, citocromo P_{450} , metalotioneínas e canais iônicos (Clough et al., 2000). A utilização de sondas RGA (análogos de genes de resistência) para avaliar uma biblioteca de cDNA foi feita. Esta biblioteca de cDNA de café utilizada foi obtida a partir de folhas infectadas pelo fungo *H. vastatrix* e enriquecidas com seqüências expressas durante a reação de hipersensibilidade. A possibilidade de encontrar seqüências de cDNA diretamente associadas à resistência, além do fato dos RGAs se agruparem a genes de resistência, fez com que se buscasse genes ou fragmentos de genes de resistência nesta biblioteca.

O objetivo deste trabalho foi o de isolar fragmentos de genes associados à resistência em bibliotecas de cDNA por meio de hibridização com sondas do tipo RGA.

Material e Métodos

O trabalho consistiu de três hibridizações consecutivas a partir da biblioteca de cDNA utilizando sondas do tipo RGA, para seleção das colônias. Depois da terceira seleção, as colônias separadas foram crescidas em meio líquido, para aumentar a quantidade de DNA presente, o qual foi purificado e enviado para sequenciamento. O resultado foi comparado a outras sequências presentes nos bancos de dados da internet (NCBI) através no programa Blast.

Biblioteca de cDNA de ‘Caturra’

A biblioteca de cDNA de café foi obtida a partir de folhas da variedade Caturra (*Coffea arabica* L.) infectadas pelo fungo *Hemileia vastatrix*. As folhas de ‘Caturra’ foram coletadas após 18 horas de inoculação durante a reação de hipersensibilidade conforme descrito por Fernandez et al. (2003).

Sondas utilizadas

Foram utilizadas para a avaliação do banco de cDNA, sondas das nove famílias (A a I) de RGA. O número dos acessos e a família a qual pertencem estes RGAs de café utilizados estão depositados na EMBL foram: AJ298883 (CrgaA1), AJ298885 (ArgaB1), AJ298886 (ArgaC1), AJ298887 (CrgaD1), AJ298888 (CrgaE1), AJ298889 (CrgaF2), AJ298891 (ArgaG1), AJ298893 (CrgaH1) e AJ298895 (ArgaI1). A sonda foi preparada segundo o procedimento descrito no manual do KIT Megaprime DNA Labelling Systems (RPN 1604) da Amersham para marcação de sondas radioativas utilizando [α - ^{32}P]dCTP.

Resultados e Discussão

Durante a hibridização com as sondas RGA utilizando a biblioteca de cDNA de café para isolar parte de um gene associado à resistência a doenças em plantas, 32 clones desta biblioteca foram isolados e seqüenciados. Destes, um resultou em uma seqüência de 428 nucleotídeos ou 142 aminoácidos (Figura 1). Esta seqüência apresentou alta homologia a catalases de outras plantas, como *Nicotiana glauca*, *Prunus persica*, *Capsicum annuum*, *Glycine max*, *Manihot esculenta*, *Phaseolus vulgaris*, *Lycopersicon esculentum*, *Gossypium hirsutum*, entre outras.

Foi dado a catalase de *Coffea arabica* L. o nome de Cat-C, para que fosse possível diferenciá-la das demais catalases comparadas. Na Figura 1, temos a seqüência de nucleotídeos de Cat-C e, logo abaixo de cada linha, sua seqüência deduzida de aminoácidos. Foi verificada a presença, na região carboxi-terminal da catalase, de uma seqüência peroxissomal marcada com uma caixa em azul (TRL) (Fig. 1). Há diferença de uma base, indicada em vermelho. A presença de uma adenina no lugar de uma timina. Assim, ao invés de ser encontrada a seqüência SRL (Serina-Arginina-Leucina), proteína original associada à seqüência C-terminal, encontrou-se a seqüência TRL (Treonina-Arginina-Leucina). Uma das possibilidades para explicar esta diferença é devido a problemas no final do sequenciamento desta extremidade, a qual poderia estar pouco legível. A presença destes aminoácidos conservados nos indica que estariam faltando para o término da região C-terminal cerca de 6-7 resíduos de aminoácidos (Nebel et al., 1995; Kwon e An, 2001). Também falta isolar e sequenciar a extremidade N-terminal da catalase (cat-C) de café.

A presença desta seqüência peroxissomal na região C-terminal, formada pelos aminoácidos SRL, encontrada em quase todas as catalases de plantas (González, 1991) foi um indício da associação entre a catalase encontrada e a resistência em plantas. Como a seqüência obtida da catalase de café é parcial, não foi possível verificar a presença dos aminoácidos

conservados envolvidos na atividade catalítica (His, Ser e Asn), bem como da associação direta com o grupo heme (Val, Arg, Tyr, Phe e Pro). Após o alinhamento da sequência parcial de nucleotídeos da catalase de café (Cat-C) (senso direto) com outras sequências parciais e totais de nucleotídeos de outras catalases, obtidas em bancos de dados de sequências disponíveis na internet, foram verificadas dentre as maiores identidades, as que estavam associadas à resistência. Foi possível encontrar, com identidade de 82%, uma catalase (Cat-1) de ligação ao ácido salicílico (SR1) de *Nicotiana tabacum*. Na mesma porcentagem de identidade, foi encontrada também outra sequência parcial de nucleotídeos da catalase (Cat-1) de *Prunus persica*, entre outras. O que mostra a utilidade destas sequências para a utilização, como sondas, na busca de genes heterólogos desta catalase.

Como foi visto, a catalase Cat-C obtida a partir da biblioteca de cDNA de café, ao ser comparada com o banco de dados de sequências, tanto de nucleotídeos, quanto de proteínas, apresentou forte homologia com as sequências comparadas, variando de 75 a 85%. Além das sequências acima mostradas, outras catalases foram encontradas mostrando alta homologia a Cat-C, como por exemplo: Cat-1 de *N. plumbaginifolia* (79%), Cat-2 de *Prunus persica* (82%), Cat-2 de *Lycopersicon esculentum* (77%), algodão (81% a Cat-2 de *Gossypium hirsutum*), entre outras.

Alguns trabalhos têm demonstrado que a proteína SABP de *N. tabacum*, *A. thaliana* e de tomateiro é uma catalase que inibe o ácido salicílico (Sánchez-Casas e Klessig, 1994). As propriedades apresentadas por esta proteína sugerem seu envolvimento na indução, mediada pelo ácido salicílico, da resistência sistêmica adquirida em plantas. A inibição da catalase pode levar a um aumento na concentração de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) ou espécies ativas de oxigênio dele derivados que surgiram durante a respiração, fotossíntese, fotorespiração ou durante a resposta hipersensível contra patógenos. O H₂O₂ pode ter uma atividade antibiótica contra a invasão dos patógenos. Este peróxido e seus derivados podem também atuar como intermediários na cascata de sinalização para a expressão de genes relacionados à defesa (Durner et al., 1997).

Levando em consideração o papel proposto por diversos autores de que H₂O₂ age como um mensageiro secundário na indução do mecanismo de defesa (Apostol et al., 1989), outra interpretação para o mecanismo pode ser formulada. Se o H₂O₂ gerado durante a interação planta-patógeno pode induzir os mecanismos de defesa, ele seria crítico também para a busca do patógeno para estabelecer uma interação compatível para interferir com os níveis endógenos e conseqüentemente a difusão do mensageiro secundário. Durante a evolução, os patógenos poderiam então ter desenvolvido mecanismos para controlar os níveis de H₂O₂ dentro dos tecidos da planta. Tal mecanismo pode controlar direta ou indiretamente, a expressão da catalase (Niebel et al., 1995).

Conclusões

Cat-C foi a primeira catalase parcial isolada e seqüenciada de *C. arabica* L. Esta catalase encontrada apresenta alta homologia a outras catalases e está envolvida na resposta a estresses bióticos e abióticos nas plantas, como por exemplo, a resistência a doenças. Há muitos mecanismos que ainda precisam ser esclarecidos, no entanto, o sequenciamento completo da catalase (Cat-C) do cafeeiro, poderia ser útil para o isolamento de outros genes envolvidos, direta ou indiretamente, na resistência. Entender mais sobre a bioquímica da catalase bem como o processo de sua ativação é extremamente importante para trabalhos com resistência induzida e adquirida em plantas.

Referências Bibliográficas

- Apostol, I., Heinstein, P.F. e Low, P.S. 1989. Rapid stimulation of an oxidative burst during elicitation of cultured plant cells. Role in defense and signal transduction. *Plant Physiol.*, 90: 109-116.
- Chamnonpol, S., Willekens, H., Moeder, W., Langebartels, C., Sandermann, H., Van Montagu, M., Inzé, D. e Van Camp, W. 1998. Defense activation and enhanced pathogen tolerance induced by H₂O₂ in transgenic tobacco. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95: 5818-5823.
- Chen, Z.X., Silva, H. e Klessig, D.F. 1993. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. *Science*, 262: 1883-1886.
- Clough, S.J, Fengler, K.A., Yu, I.C., Lippok, B., Smith, R.K. e Bent, A.F. 2000. The Arabidopsis dnd1 "defense, no death" gene encodes a mutated cyclic nucleotide-gated ion channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 16: 9323-9328.
- Conrath, U., Chen, Z.X., Ricigliano, J.R. e Klessig, D.F. 1995. Two inducers of plant defense responses, 2,6 dichloroisonicotinic acid and salicylic acid, inhibit catalase activity in tobacco. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92: 7143-7147.
- Diatchenko, L., Lau, Y-F.C., Campbell, A.P., Chenchik, A., Moqadam, F., Huang, B., Lukyanov, S., Lukyanov, K., Gurskaya, N., Sverdlov, E.D. e Siebert, P.D. 1996. Suppression subtractive hybridization: A method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93: 6025-6030.
- Dorey, S., Baillieul, F., Saindrenan, P., Fritig, B. e Kauffmann, S. 1998. Tobacco Class I and II Catalases Are Differentially Expressed During Elicitor-Induced Hypersensitive Cell Death and Localized Acquired Resistance. *MPMI*, 11(11): 1102-1109.
- Du, H. e Klessig, D.F. 1997. Identification of a Soluble, High-Affinity Salicylic Acid-Binding Protein in Tobacco. *Plant Physiol.*, 113: 1319-1327.
- Durner, J. e Klessig, D.F. 1995. Inhibition of ascorbate peroxidase by salicylic acid and 2,6-dichloroisonicotinic acid, two inducers of plant defense responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92: 11312-11316.
- Durner, J., Shah, J. e Klessig, D.F. 1997. Salicylic acid and disease resistance in plants. *Trends in Plant Science*, 2: 266-274.
- Fernandez, D., Noir, S., Agostini, C., Bon, M-C., Combes, M-C., Silva, M.C., Guerra-Guimaraes, L., Anthony, F., Bertrand, B. e Lashermes, P. 2001a. Molecular physiology and genetics of coffee resistance to parasites. *Proceedings of the XIX Scientific Colloquium on Coffee, ASIC, Trieste, Italy, Asic (eds.), Paris, CD-Rom, 7p.*

- Fernandez, D., Santos, P., Bom, M-C., Combes, M-C., Agostini, C., Silva, M.C., Guerra-Guimarães, L. e Ribeiro, A. 2001b. Construction of libraries of coffee cDNA sequences early expressed during hypersensitive response to the rust pathogen *Hemileia vastatrix*, using subtractive suppressive hybridization. In: Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, 11., e Congress of the Sociedade Portuguesa de Fitopatologia, 3., 17-20 de setembro de 2001. Proceedings... Evora, Portugal, p.196-198.
- Fernandez, D., Santos, P., Agostini, C., Bom, M-C., Petitot, A-S., Silva, M.C., Guerra-Guimarães, L., Ribeiro, A. e Nicole, M. 2003. Early expressed coffee genes in the hypersensitive reaction to the rust fungus *Hemileia vastatrix*. Poster apresentado no 11º Congresso MPMI, 18-26 Julho, São Petersburgo, Rússia.
- Gonzales, E. 1991. The C-terminal domain of plant catalases. *Eur. J. Biochem.*, 199: 211-215.
- Guerra-Guimarães, L., Silva, M.C., Nicole, M., Azinheira, H.G., Rodrigues JR., C.J. e Pinto Ricardo, C. 2001. Chitinase activity associated with coffee-rust interaction. 2001. In: Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, 11., e Congress of the Sociedade Portuguesa de Fitopatologia, 3., 17-20 de setembro de 2001. Proceedings... Evora, Portugal, p.356-358.
- Kwon, S.I e An, C.S. 2001. Molecular cloning, characterization and expression analysis of a catalase cDNA from hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Science*, 160: 961-969.
- Malamy, J., Hennig, J. e Klessig, D.F. 1992. Temperature dependent induction of salicylic acid and its conjugates during the resistance response to tobacco mosaic virus infection. *Plant Cell*, 4: 359-365.
- Morita, S., Tasaka, M., Fujisawa, H., Ushimaru, T. e Tsuji, H. 1994. A cDNA Clone Encoding a Rice Catalase Isozyme. *Plant Physiology*, 105: 1015-1016
- Natvig, D.O., Sylvester, K., Dvorachek, W.H., Jr., e Baldwin, J.L. 1996. Superoxide dismutases and catalases. Pages 191-209 in: *The Mycota III: Biochemistry and Molecular Biology*. R. Braml and G. A. Marzluf, eds. Springer-Verlag, Berlin.
- Neuenschwander, U., Vernooij, B., Friedrich, L., Uknes, S., Kessmann, H. e Ryals, J. 1995. Is hydrogen peroxide a second messenger of salicylic acid in systemic acquired resistance? *Plant J.*, 8: 227-233.
- Ni, W. e Trelease, R.N. 1991. Post-transcriptional regulation of catalase isozyme expression in cotton seeds. *Plant Cell*, 3: 737-744.
- Niebel, A., Heungens, K., Barthels, N., Inzé, D., Van Montagu, M. e Godelieve, G. 1995. Characterization of a pathogen-induced potato catalase and its systemic expression upon nematode and bacterial infection. *MPMI*, 8(3): 371-378.
- Sánchez-Casas, P. e Klessig, D.F. 1994. A salicylic acid-binding activity and a salicylic acid-inhibitable catalase activity are present in a variety of plant species. *Plant Physiol.*, 106: 1675-1679.
- Scandalios, J.G. 1990. Response of plant antioxidant defense genes to environmental stress. *Adv. Genet.*, 28: 1-41.
- Silva, M.C., Guerra-Guimarães, L., Nicole, M. e Rodrigues Jr, C.J. 2001a. Aspectos citológicos e bioquímicos da interação cafeeiro-ferrugem alaranjada. *Anais do Congresso Brasileiro de Fitopatologia e 34º Congresso Latino Americano de Fitopatologia*, 11, Agosto de 2001, São Pedro, SP, Brasil.
- Silva, M.C., Loureiro, A., Guerra-Guimarães, L., Nicole, M., Valente, P. e Rodrigues Jr, C.J. 2001b. Active oxygen metabolism in the hypersensitive response of coffee-rust interaction. 2001. In: Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, 11., e Congress of the Sociedade Portuguesa de Fitopatologia, 3., 17-20 de setembro de 2001. Proceedings... Evora, Portugal, p.346-348.
- Silva, M.C., Nicole, M., Guerra-Guimarães, L. e Rodrigues Jr, C.J. 2002. Hypersensitive cell death and post-haustorial defense response arrest the orange rust (*Hemileia vastatrix*) growth in resistant coffee leaves. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 160 (4): 169-183.
- Slaymaker, D.H., Navarre, D.A., Clark, D., del Pozo, O., Martin, G.B. e Klessig, D.F. 2002. The tobacco salicylic acid-binding protein 3 (SABP3) is the chloroplast carbonic anhydrase, which exhibits antioxidant activity and plays a role in the hypersensitive defense response. *PNAS*, 99(18): 11640-11645.
- Willekens, H., Inzé, D., Van Montagu, M. e Van Camp, W. 1995. Catalases in plants. *Mol. Breeding*, 1: 207-228.

1 ATATTCGCATATGGTGATACCCAAGCGACACCGTCTTGGCCCAAACCTATA 50
 Y S H M V I P K R H R L G P N Y
 51 TGCAGCTTCCTGTAAATGCTCCCAAGTGTGCTCATCACAACAATCACTAT 100
 M Q L P V N A P K C A H H N N H Y
 101 GATGGTTTCATGAACTTCATGCACCGGGATGAAGAGGTCGATTATTTCCC 150
 D G F M N F M H R D E E V D Y F P
 151 TTCAAGGTTTCGATCCTGTTCGTCATGCTGCGAGGCATCCCATCCCCTCTAC 200
 S R F D P V R H A A R H P I P S T
 201 TGTCTGAGAGGAAAGCGTGACAGGTGTGTTACTCCGAAGGAGAACAAC 250
 V L R G K R D R C V T P K E N N
 251 TTCAAGCAAGCGGGAGAGAGATACCGATCCTGGGCACCTGACAGGCAAG 300
 F K Q A G E R Y R S W A P D R Q
 301 AGAGATTTATCTGCCGATGGGTTGATATTTTATCTGATGCACGAGTCACC 350
 E R F I C R W V D I L S D A R V T
 351 CATGAGATCCGCAGTATCTGGATTTCATACTGGTCTCAGGCTGACAAATC 400
 H E I R S I W I S Y W S Q A D K S
 401 TCTTGGTCAGAAAATGGCTACTCGTCTCA 428
 L G Q K M A T R L

Figura 1. Sequência de nucleotídeos de Cat-C (catalase de *Coffea arabica*) e sua sequência deduzida de aminoácidos. Presença da sequência peroxissomal na região C-terminal da catalase marcada com uma caixa (TRL) e em azul.