



EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS EM TECIDOS VEGETAIS DE CAMU-CAMU

Bárbara Bianca Silva Lima, Universidade Federal de Roraima, E-mail:

barbarabianca.lima@gmail.com;

Edvan Alves Chagas, Embrapa Roraima, E-mail: edvan.chagas@embrapa.br;

Rita de Cássia Pompeu de Sousa, PPG-Bionorte/Embrapa Roraima, E-mail:

rita.sousa@embrapa.br;

Rosemary Vilaça, Embrapa Roraima, E-mail: rosemary.vilaca@embrapa.br.

INTRODUÇÃO

Estudar o proteoma do fruto do camu-camu (*Myrciaria dúbia*), em diferentes estádios de maturação possibilita o aprofundamento de conhecimento quanto a fisiologia desse vegetal, gerando perspectivas para a obtenção de produtos biotecnologicamente importantes, através da detecção de proteínas, a qual se dá através de métodos que possibilitem a extração de proteína de tecidos do fruto.

A *Myrciaria dubia*, cresce na margem dos rios e lagos de toda a bacia Amazônica. No Estado de Roraima, Amazônia Setentrional, foram registradas populações naturais a partir de expedições em todos os municípios nos anos de 2010 e 2015, no período seco e chuvoso, em áreas alagáveis, matas ciliares dos rios e seus afluentes, lagos e igarapés (CHAGAS et al., 2015).

Neste contexto, a aplicação de uma abordagem de estudo baseada na análise proteômica diferencial em órgãos distintos de cascas e sementes de *Myrciaria dubia* possibilita a identificação de prováveis proteínas relacionadas a alterações moleculares ligadas ao metabolismo de modo geral em sementes de frutíferas, pois, se houver abundância relativa de proteínas nas amostras analisadas, indica-se uma baixa taxa metabólica nas vias oxidativas e de degradação, normalmente ativadas no processo de pós-colheita dos frutos.

Um dos procedimentos utilizados para detecção de proteínas é por meio da variação de cor da solução quando compostos químicos reagem com proteínas. É ampla a variedade de compostos capazes de reagir com proteínas e formar compostos coloridos. Existem reações de coloração que são específicas para certos grupos funcionais de aminoácidos como, também, existem reações gerais que caracterizam grupamentos comuns a todas as proteínas.

OBJETIVOS

Objetivou-se com este trabalho extrair e qualificar proteínas da semente do fruto de *Myrciaria dubia* em diferentes estádios de maturação.

MATERIAIS E MÉTODOS OU METODOLOGIAS

O trabalho foi executado no laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Roraima. As amostras de sementes e cascas foram obtidas de frutos maduros e imaturos oriundos de uma coleção plantas de *Myrciaria dubia* no campo experimental da empresa localizado na região da Serra da Prata, em Mucajaí - Roraima.

Para a extração das proteínas foi aplicado um dos protocolos proposto por Souza (2010), realizando as adaptações necessárias. As cascas e sementes (Figura 1-A e B) foram extraídas dos frutos *in natura*, as quais foram trituradas em nitrogênio líquido. Em seguida foi adicionado em cada amostra de tecido do fruto triturado, solução tampão PBS (solução salina tamponada) e posteriormente as amostras foram incubadas a 24°C por um período de 24 horas (figura 1-B). Após o tempo de incubação as amostras foram agitadas e centrifugadas a 1300 rpm por 10 minutos. Dessa forma se obteve o sobrenadante de cada amostra, o qual continha proteína, sendo comprovada posteriormente por meio de análise qualitativa de proteína.

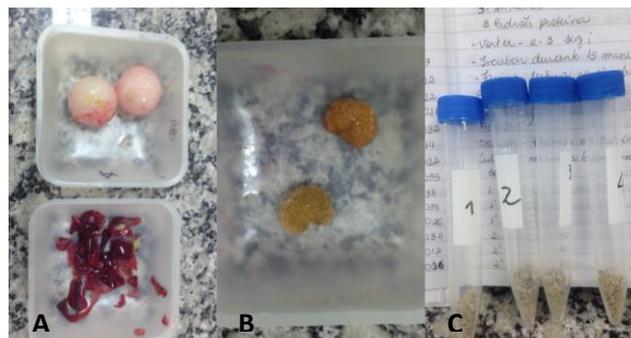


Figura 1: A - casca do fruto camu camu; B - semente do fruto camu camu; C - amostras com solução tampão.

A análise qualitativa de proteínas foi feita com base na alteração de cor da solução. Para o desenvolvimento da mesma, foram utilizados os reagentes hidróxido de sódio e sulfato de cobre. Durante o procedimento foram preparados uma solução de referência com água e três repetições da amostra com proteína de semente de camu-camu. Em cada frasco foi adicionado os dois reagentes citados acima.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 2 representa o resultado da análise qualitativa. O frasco representado pela letra B contém a solução de referência e os representados pelos números I, II e III são repetições de uma amostra obtida na extração de proteína da semente de *Myrciaria dubia*. Ao ser adicionado na solução de referência o hidróxido de sódio e o sulfato de cobre, a cor da solução foi alterada para azul, as repetições das amostras, ao sofrerem o mesmo tratamento, tiveram sua cor alterada de azul para azul-esverdeado, indicando assim a presença de proteína.

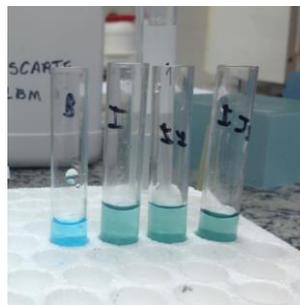


Figura 2: análise qualitativa de proteína.

A melhor preparação da amostra é aquela que utiliza um menor número possível de reagentes com a mínima manipulação (ANDRADE, CELEDÓN e LABATE, 2006). O procedimento aplicado atende essas recomendações, possibilitando informações preliminares e seguras, sobre a presença de proteínas em materiais nativos da Amazônia, caso da *Myrciaria dubia* o qual, cresce na margem dos rios e lagos de toda a bacia Amazônica.

Uma reação geral que caracteriza ligações peptídicas é chamada reação de biureto, nome dado à estrutura originada a partir da decomposição da uréia, quando esta é submetida a uma temperatura de aproximadamente 180°C e que fornece resultado positivo nesse teste (Petkowicz, 2007). O biureto, ao reagir com íons Cu^{2+} em meio alcalino, resulta em uma solução de coloração violeta. Sendo que, a intensidade da coloração violeta varia de acordo com a concentração de proteínas na amostra analisada (Figura 2).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos, sendo os mesmos positivos, foram avaliados observando-se a intensidade da coloração, a qual variou de acordo com a concentração de proteínas em



cada amostra. O meio extrator, permite a extração de proteína da semente de forma simples e mais rápida que outros métodos extratores propostos. A partir do extrato obtido, há possibilidade de aplicação do protocolo padrão para determinação da concentração protéica em sementes da *M. dúbia*, com vistas ao fornecimento de dados para avaliação do perfil proteômico desse tecido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, V. V., CANESIN, E. A., SUZUKI, R. M., PALIOTO, G. F. Análise Qualitativa de Proteínas em Alimentos Por Meio de Reação de Complexação do Íon Cúprico. *Química Nova na Escola*, v. 35, p. 34-40, 2013.

ANDRADE, A.; CELEDÓN, P.A.F.; LABATE, C.A.O proteoma da madeira. *Biociência, Ciência & Desenvolvimento*. Ano IX, No 36. janeiro/junho, 2006. Disponível em www.biociencia.com.br. Acesso em janeiro 2014.

CHAGAS, E.A.; LOZANO, R.M.B.; BACELAR-LIMA, C.G.; GARCIA, M.I.G.; OLIVEIRA, J.V.; SOUZA, O.M.; MORAIS, B.S.; CHAGAS, P.C.; ARAÚJO, M.C.R. Variabilidade intraespecífica de frutos de camu-camu em populações nativas na Amazônia Setentrional. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 2015 (no Prelo).

SOUZA, A. L. Análise proteômica de semente e pericarpo de guaraná em diferentes estádios de maturação. 2010. 140 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM, 2010.