

## ISOLAMENTO DO PROTEOMA SOLÚVEL DE FOLHA E RAIZ DE *STYLOSANTHES SCABRA* VOGEL. PARA ANÁLISE DIFERENCIAL

Sheyla Carla Barbosa da Silva Lima<sup>1</sup>; Fabiana Aparecida Cavalcante Silva<sup>1</sup>; Elton Pedro Nunes Pena<sup>2</sup>; Melquisedec de Souza Oliveira<sup>1</sup>; Nataniel Franklin de Melo<sup>3</sup>; Ana Maria Benko Iseppon<sup>4</sup>; Valesca Pandolfi<sup>4</sup>; Tercílio Calsa Júnior<sup>1</sup>.  
*E-mail: sheyla\_bio@hotmail.com*

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Centro de Biociências, Departamento de Genética, Laboratório de Genômica e Proteômica de Plantas, Recife, PE, Brasil; <sup>(2)</sup>Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Centro de Biociências, Departamento de Genética, Laboratório de Genômica e Proteômica de Plantas, Recife, PE, Brasil; Universidade de Pernambuco, Recife, PE, Brasil; <sup>(3)</sup>Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, Brasil.; <sup>(4)</sup>Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Centro de Biociências, Departamento de Genética, Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal, Recife, PE, Brasil

### RESUMO

A *Stylosanthes scabra* é uma leguminosa com ocorrência no semiárido brasileiro, com características de resistência à baixa fertilidade do solo, pH ácido, seca, entre outros. Identificar as proteínas acumuladas principalmente em condição de déficit hídrico é relevante para entender a expressão de genes que a torna tolerante à seca. Não são descritos métodos sobre extração de proteínas em *S. scabra*, assim este trabalho teve como objetivo testar processos para esta espécie, acesso 85/UNEB. Foram testados três métodos com amostras de folha e raiz. A primeira etapa foi igual para todos os métodos, a maceração com nitrogênio líquido até pó fino, em seguida diferenciando em: método 1: ao tubo foi adicionado tampão de extração (EDTA 50 mM, Tris HCl 0,5 M pH 7,5,  $\beta$ -mercaptoetanol 2%, sacarose 0,7 M, PMSF 2 mM e KCl 0,1 M), manteve-se sob agitação em gelo, seguiu-se pela adição de fenol saturado pH 6,8 e agitação em vortex. Após centrifugação, foi adicionado à fase fenólica metanol com 0,1 M de acetato de amônio, incubando-se por 16 h a -20 °C. Em seguida foram feitas lavagens com metanol contendo 0,1 M de acetato de amônio e acetona 80%, e ressuspensão em ureia (7M); tioureia (2M). Método 2: foi adicionado à amostra TCA 10% e armazenada em freezer por 10 min, em seguida centrifugada e o sobrenadante com TCA descartado, repetindo-se esta etapa duas vezes. Logo após, seguiu-se com o método 1. Método 3: à amostra foi adicionado tampão de lise (ureia 7M/tioureia 2M, 4% CHAPS, 1% DTT), a mesma foi centrifugada e o sobrenadante transferido para novo tubo. Após a ressuspensão, em todos os métodos o material foi dividido em dois tubos com quantidades iguais. Uma parte das amostras foi submetida à limpeza com tampão SDS denso, fenol saturado pH 6,8 e metanol contendo acetato de amônio (0,1 M), lavagens com este e acetona 80%, seguidas de ressuspensão em ureia (7M); tioureia (2M). Com base no rendimento, o método 1 sem limpeza adicional, apresentou-se mais eficiente para ambos tecidos 3212,83  $\mu$ g/g (folha) e 1314,73  $\mu$ g/g (raiz). O gel SDS-PAGE 1D foi realizado de acordo com o manual do equipamento (cuba para eletroforese vertical, OMNIPHOR) e em análise deste gel, tais amostras também apresentaram melhor qualidade (definição de bandas e resolução). Assim, conclui-se que o método 1 é o mais recomendado para extração de proteínas totais foliares e radiculares de *S. scabra*, possuindo quantidade e qualidade adequadas, sendo o mais apropriado para análise proteômica subsequente.

### APOIO

Apoio: CAPES