

PROTOCOLO PARA ANÁLISE PROTEÔMICA DE *Colletotrichum gloeosporioides*

Rosilene Oliveira Mesquita¹; Rebeca Peres Moreno Maia²; Marlos Alves Bezerra³

¹Universidade Federal do Ceará; ²Universidade Estadual do Ceará; ³Embrapa Agroindústria Tropical, CP 3761, 60511-110, Fortaleza, CE, Brasil

O fungo *Colletotrichum gloeosporioides* causa a antracnose do cajueiro, doença que promove perdas consideráveis na produtividade das plantas. Em função da importância dessa doença e da dificuldade do seu controle, faz-se necessário a utilização de novas ferramentas para o estudo da interação patógeno-hospedeiro, visando o manejo adequado da doença. Nesse sentido o presente trabalho teve por objetivo definir um protocolo de extração e análise por eletroforese bidimensional das proteínas expressadas diferencialmente em função da interação *Colletotrichum*-cajueiro. O fungo crescido em meio líquido foi filtrado a vácuo, macerado com nitrogênio líquido e liofilizado. Para a extração das proteínas, o material liofilizado foi adicionado a uma solução de TCA 10%, homogeneizado e centrifugado, com o precipitado coletado e lavado com acetona gelada. Em seguida, o material foi novamente centrifugado e o precipitado final recolhido, secado e armazenado a -20° C para posterior análise. As proteínas extraídas foram inicialmente colocadas em tampão de solubilização, seguido de centrifugação e coleta do sobrenadante. Após a quantificação das proteínas pelo Comassie Blue, ocorreu a focalização isoeletrica. As proteínas foram carregadas diretamente no gel de focalização com gradiente de pH imobilizado, na faixa de 3 a 10. A focalização das proteínas foi feita em um IPGphor. A segunda dimensão foi realizada em géis de poliacrilamida e a detecção das proteínas resolvidas em 2-DE/SDS-PAGE foi feita através da afinidade das proteínas pela prata. A análise dos géis bi-dimensionais foi feita, inicialmente, através da digitalização das imagens captadas em ImageScanner II. Os géis foram comparados e os "spots" de proteínas foram determinados pela massa molecular e ponto isoeletrico com o emprego do Software ImageMaster 2D. O presente protocolo mostrou-se eficiente para a análise proteômica do fungo.

Agradecimentos: FINEP.