

PURIFICAÇÃO E PRODUÇÃO DE ANTICORPOS DE UMA PROTEÍNA ESPECÍFICA DE *Ipomoea batatas* (L.) Lam. cv. BRAZLÂNDIA BRANCA
Márcia Martins¹; Edilson Paiva²; José E.B.P.Pinto³; Isabela A.Nougalli⁴

A esporamina representa 60 a 80 % do total de proteínas solúveis nas raízes tuberosas de batata doce. Objetivando-se certificar, a partir de imunotestes, se estruturas semelhantes a raízes tuberosas produzidas *in vitro* são idênticas as do campo, realizou-se a purificação dessa proteína e a produção de um anticorpo policlonal contra a mesma. O tecido do parênquima das raízes tuberosas foi homogeneizado com tampão (Tris-EDTA, ácido ascórbico e sacarose) e centrifugado. O sobrenadante foi fracionado com sulfato de amônio a 35-45% e ressuscitado com tampão Tris-EDTA. Dialisou-se a amostra em tampão Tris-EDTA e esta foi aplicada a coluna cromatográfica de troca iônica. A coluna foi lavada com Tris-EDTA e KCl 0,1 M, e as proteínas eluídas com Tris-EDTA e KCl 0,2 M. Quantificou-se as frações em espectrofotômetro de absorção a 280 nm e visualizou-se em eletroforese em gel de poliacrilamida a 12,5 %. As frações que apresentaram a esporamina quase pura passaram por diálise e novamente em coluna cromatográfica. Precipitou-se com sulfato de amônio (35 - 45 %) e ressuscitou-se em Tris-EDTA. O sobrenadante e a ressuspensão, a 280 nm, apresentaram 0,2 e 0,17 mg/ml de proteína (1 OD₂₈₀ ~ 1 mg/ml), verificou-se que ambos apresentavam a esporamina praticamente pura. Liofilizou-se o material de 0,17mg/ml, ressuscitou-se com Tris-EDTA, dialisou-se, quantificou-se a 280 nm (0,353 mg/ml de esporamina). Após visualização a partir de eletroforese, a esporamina foi aplicada em coelhos para a obtenção de anticorpo policlonal.

¹ Mestranda da Área de Fisiologia Vegetal/DBI-UFLA, 37.200-000, Lavras/M.G.

² Pesquisador do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo/EMBRAPA - Sete Lagoas/M.G.

³ Professor Titular do Departamento de Agricultura - UFLA

⁴ Estudante de Graduação de Agronomia - UFLA