

OTIMIZAÇÃO DE PROTOCOLOS DE EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS PARA ELETROFORESE BIDIMENSIONAL

Muratt, D. T.¹; Consoli, L.^{2*}; Torres, G. A. M.²; Girardi, C. L.³; Oliveira, P. R. de³

A eletroforese bidimensional (2D) é uma técnica de separação de proteínas baseada em duas características físico-químicas das proteínas: carga elétrica e massa molecular. Esta técnica é amplamente utilizada em proteômica, possibilitando o estudo do produto final da expressão gênica em larga escala, visando à identificação de genes candidatos relacionados com problemáticas de interesse (por exemplo, estresses abióticos e bióticos). A primeira dimensão corresponde a uma eletroforese de focalização isoeletrica (IEF), onde as proteínas são separadas até atingirem o ponto isoeletrico (somatório de cargas igual a zero). Na segunda dimensão, as proteínas são separadas em géis SDS-PAGE de acordo com as massas moleculares. Uma das limitações desta técnica, dependendo do tipo de coloração usada para a visualização das proteínas nos géis, é a necessidade de protocolos de extração apresentando alto rendimento de proteínas. O objetivo deste trabalho foi comparar três métodos de extrações baseados em protocolos com TCA/Acetona, SDS e Fenol. Foram testadas amostras de trigo (folha, grão e espiga) e de maçã (polpa e gema). Após a extração, o *pellet* foi ressuspensionado em um tampão de solubilização específico para a eletroforese bidimensional. Os extratos protéicos foram visualizados em géis de SDS-PAGE e em géis de eletroforese 2D, corados com azul de coomassie G-250 ou nitrato de prata. Imagens digitais dos géis 2D foram obtidas com o auxílio do densitômetro GS-800 e analisadas com o programa PD-Quest (BioRad). A extração com fenol apresentou rendimentos superiores para as amostras de espiga de trigo, polpa e gema de maçã, possibilitando a visualização de um maior número de proteínas nos géis 2D. O rendimento de extração do protocolo com TCA/Acetona apresentou resultados satisfatórios para as amostras de folha e grão de trigo.

¹ Acadêmico do curso de Química, Universidade de Passo Fundo. Bolsista Embrapa Trigo.

² Pesquisador da Embrapa Trigo, *orientador.

³ Pesquisador da Embrapa Uva e Vinho.