

SEPARAÇÃO DE MISTURAS COMPLEXAS DE PROTEÍNAS DE TRIGO VIA ELETROFORESE BIDIMENSIONAL

Guareschi, C.¹; Orso, D.¹; Consoli, L.^{2*}; Torres, G. A. M.²

O termo proteoma surgiu em 1994 para designar o conjunto de proteínas expresso pelo genoma de uma célula, tecido ou órgão em determinado ambiente. Desde a década de 1970, os géis de eletroforese bidimensional (géis 2D) são usados como suporte para o estudo em larga escala de proteínas. A proteômica vem sendo considerada uma das áreas centrais da genômica funcional, proporcionando a visualização de centenas/milhares de proteínas em sistemas de eletroforese e no desenvolvimento de sistemas capazes de identificar seqüências polipeptídicas e detectar mudanças pos-traducionais, baseados na espectrometria de massas. Essa abordagem vem sendo usada em várias espécies vegetais visando a identificação de proteínas diferencialmente expressas em resposta a diversos tipos de estresses. O objetivo deste trabalho foi o de otimizar um protocolo de eletroforese bidimensional para análise de misturas complexas de proteínas, definindo um tampão de solubilização adequado para proteínas presentes em diferentes tecidos vegetais, visando sua aplicação na identificação de proteínas candidatas envolvidas na resposta da planta a estresses bióticos e abióticos. Foram usados tecidos foliar, de hipocótilo e de raiz de trigo para obtenção de extratos de proteínas. As proteínas foram solubilizadas em 4 tampões de extração, apresentando diferenças na composição quanto aos tipos e combinações de caotrópicos, detergentes e redutores. As proteínas solubilizadas nos tampões foram submetidas à isoeletrofocalização (IEF) em géis IPG de acrilamida com 17 cm de comprimento com faixa de pH3-10 e pH4-7. A IEF foi realizada no aparelho IPGphor (Bio-Rad) a uma corrente constante de 50 mA por fita durante 72000 V.h. Os géis IPG foram transferidos para géis de SDS-PAGE e, ao final da eletroforese, os géis de SDS-PAGE foram corados com Coomassie Blue e corante de Blaksley. As imagens digitalizadas dos géis, obtidas com o densitômetro GS800 (Bio-Rad), foram analisadas com o programa PDQuest (Bio-Rad). Os resultados obtidos permitiram a definição do Tampão 4 usado na solubilização das proteínas, contribuindo para uma melhor resolução dos spots de proteínas nos géis 2D com pH 4-7. Este tampão apresentou resultados superiores para a resolução de proteínas extraídas de raízes, hipocótilos e folhas de trigo.

¹ Acadêmico do curso de Bioquímica, Universidade de Passo Fundo.

² Pesquisador da Embrapa Trigo, *orientador.