



OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DE DIFERENTES TECIDOS DE AMENDOIM PARA ANÁLISE DE PROTEÔMICA

Valeska Silva Lucena¹, Roseane Cavalcanti dos Santos, Liziane Maria de Lima, Géssica Laize Berto Gomes, Daniela Duarte Barbosa, Geisenilma Maria Gonçalves da Rocha, Tercílio Calsa Júnior, Fabiana Aparecida Cavalcante Silva, Péricles de Albuquerque Melo Filho

1. Embrapa algodão/Renorbio (UFRPE) - valeskasl@hotmail.com

RESUMO: O Amendoim (*Arachis hypogaea*) é uma das importantes fontes de proteína e óleo vegetal, porém existe pouca informação sobre a identificação de proteínas expressas em condições de estresse biótico e abiótico. O crescimento das plantas nestas condições resulta em uma série de eventos integrados, como a tradução e regulação da expressão de genes que ocasionam modificações metabólicas, as quais podem ser identificadas por análises proteômicas. Portanto, identificar as proteínas presentes nesta célula em determinada condição é um fator preponderante para entender o processo de expressão dos genes que aumentam a tolerância ao estresse nas variedades para que as mesmas possam ser utilizadas em programas de melhoramento. Uma das etapas cruciais para análise de proteômica é a extração de proteínas que se apresenta como principal limitação. No caso do amendoim a contaminação com óleo é um fator que deve ser considerado, pois dificulta a separação das proteínas nas eletroforeses unidimensional (1DE) e bidimensional (2-DE). Objetivou-se com este trabalho otimizar um método para extração de proteínas em dois genótipos de amendoim (Senegal e LVipe-06) para análise proteômica. Para isto, foram testados dois métodos: (I) ruptura de tecidos (semente, raiz e folha) em cadinhos previamente congelados a -80°C com auxílio de gelo químico e extração com TCA (10%) em acetona seguido de outra extração com tampão SDS denso, fenol e metanol contendo acetato de amônio (0,1 M) e lavagens com acetona a 80% e 100%, seguido de ressolubilização em Ureia (7M); Thiourea (2M) e CHAPS (2%); (II) maceração direta em cadinho contendo tampão gelado composto de Tris-HCl 0,1M pH 6,8; SDS (2%) e DTT (0,1 M), com solubilização dos lipídios em Clorofórmio/Methanol e a precipitação das proteínas com TCA/acetona (10%); seguido de lavagens com acetona (a 80 e 100%) e ressolubilização no mesmo tampão do método anterior. Para extração de proteínas o método I resultou em grande contaminação por óleo revelado em gel de eletroforese 1-DE, já a extração pelo método II mostrou-se mais eficiente para a solubilização dos lipídios abundantes nas sementes e as proteínas expressas puderam ser visualizadas em todos os tecidos analisados. Neste aspecto podemos concluir que a extração pelo método II foi mais eficiente para estudos de proteômica e eletroforese 1-DE e 2DE, podendo ser utilizado também para sequenciamento por espectrometria de massa.

Palavras-chave: extração de proteínas, oleaginosas, eletroforese.

Apoio: Rede Repensa, Embrapa Algodão, UFRPE, RENORBIO, Capes.