

**CBFV** 2009

XII Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal  
"Desafios para produção de alimentos e bioenergia"  
7 a 12 de setembro de 2009 - Fortaleza - CE



PROMOÇÃO:



## **Otimização de extração de proteínas de folhas e raízes de soja para análise proteômica**

**Rosilene Oliveira Mesquita<sup>1</sup>**, Eduardo de Almeida Soares<sup>1</sup>, Marcelo Ehlers Loureiro<sup>1</sup>, Humberto Josué de Oliveira Ramos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Departamento de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa (UFV), CEP 36570-000 Viçosa-MG e-mail: rosilene.mesquita@ufv.br.*

O presente trabalho teve por objetivo definir um protocolo de extração e análise por eletroforese bidimensional das proteínas expressadas em folha e raízes de soja sob déficit hídrico. Para a extração das proteínas foi utilizado cerca de 1,5 g do material fresco, no qual foi macerado em N<sub>2</sub> líquido e adicionado a uma solução tampão de extração (Tris-HCl, pH 7,5, 40mM; sacarose 250mM; EDTA 10mM; Triton X-100 1%; PMSF 1mM; DTT 1mM; 2-mercaptoetanol 2%), onde permaneceu sob agitação constante por 2h a 4 °C. O material foi centrifugado duas vezes a 6.000 x g por 15min a 4°C. As proteínas solúveis no sobrenadante foram precipitadas em solução de TCA 10% em acetona gelada, onde permaneceu overnight. Após, foi centrifugado a 6.000 x g por 15min a 4°C, com o precipitado coletado e lavado com acetona gelada até clarificação do pelete. O precipitado final foi recolhido, secado e armazenado a -20°C para posterior análise. Para cada órgão vegetal foram utilizadas três réplicas biológicas. As proteínas extraídas foram inicialmente colocadas em tampão de solubilização para gel 2-D, seguidos de sonicação, centrifugação e coleta do sobrenadante. Após estimativa da concentração de proteínas solúveis usando-se o princípio baseado no corante Comassie Blue, ocorreu a focalização isoeletrica. As proteínas foram carregadas diretamente no gel de focalização com gradiente de pH imobilizado, na faixa de 4 a 7. 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 coloração com coomassie coloidal. As imagens dos géis 2-D foram captadas em ImageScannerIII. O presente protocolo mostrou-se eficiente para obtenção de géis 2-D para análise proteômica de folhas e raízes de soja.

**Palavras-chave:** *Glycine max*, proteôma, eletroforese bi-dimensional

**Órgãos Financiadores:** CAPES/FAPEMIG/CNPq