



B261

### **EXTRAÇÃO E SOLUBILIZAÇÃO DE PROTEÍNAS DE FOLHAS DE MILHO PARA ELETROFORESE BIDIMENSIONAL**

Bianca Baccili Zanotto Vigna (Bolsista PIBIC/CNPq e FAPESP), Adriana Moreira da Silva e Silva (Co-Orientadora) e Prof. Dr. Sérgio Marangoni (Orientador), Instituto de Biologia - IB, UNICAMP

A extração de proteínas de folhas de milho é bastante difícil pelos métodos tradicionais, devido à grande quantidade de compostos interferentes apresentada por estes tecidos. Este trabalho foi realizado com o objetivo de estabelecer um protocolo de extração de proteínas adequado para a análise proteômica de folhas de milho, como parte inicial de um estudo das respostas de defesa de milho contra o fungo *Puccinia polysora*. O protocolo desenvolvido neste trabalho apresentou o melhor resultado quando comparado com outros 2 já descritos na literatura, mostrando alta eficiência na extração de proteínas totais, com total eliminação dos compostos contaminantes. O protocolo inclui (I) lavagem do tecido com acetona, (II) extensas lavagens com solventes orgânicos para remover pigmentos, lipídios, etc seguidas de lavagens com ácido tricloroacético (TCA) aquoso para a remoção de contaminantes solúveis em água, e (III) extração de proteínas por fenol na presença de SDS. O preparado final de proteínas apresentou-se livre de compostos interferentes, observado na alta resolução dos spots no géis de SDS-PAGE e de 2D. Foram testados também 4 diferentes métodos de solubilização de proteínas para a 1ª dimensão, já que esta fica dificultada após a precipitação por TCA. O melhor resultado foi obtido com o uso de um tampão de lise.

Extração de proteínas - Eletroforese bidimensional - Folhas de milho