



**Biologia Molecular, Biotecnologia e Biossegurança**

**Categoria: Iniciação Científica**

**Extração de proteínas presentes em sobrenadante de meio de cultivo para análise de exoproteoma de bactérias fixadoras de nitrogênio**

Leonardo A. Terra<sup>1</sup>, Esdras da Silva<sup>2</sup>, Patrícia G. Galvão<sup>3</sup>, Kátia Regina dos Santos Teixeira<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Bolsista CNPq, Graduando em Ciências Biológicas, UFRRJ, leonardoterra@hotmail.com.br

<sup>2</sup>Bolsista FAPERJ/TCT, Graduado em Agronomia, UFRRJ, esdrasagro@hotmail.com

<sup>3</sup>Bolsista CAPES, Doutoranda em Fitotecnia, UFRRJ, patriciaufrj@yahoo.com.br

<sup>4</sup>Pesquisador Embrapa Agrobiologia, katia@cnpab.embrapa.br

Um proteoma é constituído por todas as proteínas expressas por um genoma e sua caracterização é importante fonte de investigação sobre associações funcionais das mesmas. Uma das grandes dificuldades, no estudo de proteomas, é a limitação de técnicas capazes de permitir a solubilização de proteínas extremamente hidrofóbicas, a obtenção de material em quantidade suficiente para sua caracterização e, no caso de proteínas secretadas, a presença de contaminantes, que interferem em análises por eletroforese bidimensional (2D). O objetivo deste trabalho é estabelecer uma metodologia eficiente para extrair exoproteínas de estirpe selvagem e de estirpes mutantes de *Gluconacetobacter diazotrophicus*, essenciais para a caracterização de proteínas ainda desconhecidas, de diferentes categorias funcionais, as quais são expressas a partir de informação presente no genoma desse microrganismo. O protocolo aplicado consistiu em extração de fase aquosa do sobrenadante com fenol. Após centrifugação, a fase superior foi retirada e os componentes presentes foram precipitados com solução de acetato de amônio em metanol. O precipitado foi submetido a lavagens sucessivas, com solução gelada de metanol e acetona contendo DTT para remoção de sais. Os extratos obtidos foram quantificados por Bradford e analisados em gel unidimensional, e apresentaram bandas de proteínas em quantidade detectável por coloração com Coomassie e prata. A análise das amostras por 2D ocorreu sem interferência de contaminantes, durante a isoeletrofocalização, indicando que o procedimento testado foi eficiente para a análise.

**Palavras-chave:**

proteínas secretadas, extração de proteínas, 2D.