



Eixo temático: Ciências Moleculares

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS EM CONSÓRCIO MICROBIANO

DANTAS, Camila Paim*; SANTOS, Cristiane dos; FRANCO, Octávio Luiz; DE OLIVEIRA, Olívia Maria Cordeiro; LIMA, Danusia Ferreira

RESUMO

Introdução: A prospecção de proteínas pode contribuir diretamente na investigação de processos celulares de forma ampla e sistêmica. A identificação de proteínas diferencialmente abundantes pode elucidar informações sobre a biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo, e consequentemente revelar fatores importantes ao processo de biorremediação. A base para resultados promissores em análise proteômica é a utilização de um método confiável e reproduzível de extração de proteínas. **Objetivo:** Em vista disso, este trabalho propõe selecionar método de extração de proteínas com maior rendimento frente à composição heterógena de microrganismos num consórcio degradador de petróleo. **Material e métodos:** As cepas do consórcio fúngico (A) fazem parte dos gêneros *Penicilium*, *Aspergillus*, *Byssoschlamys*, *Rhodotorula*; o consórcio bacteriano (B) do gênero *Pseudomonas* e *Stenotrophomonas*; e o consórcio misto (C) com a combinação de ambos. Esses foram cultivados em meio líquido Bushnell Haas suplementado com 1% de petróleo ou glicerol a 180 rpm durante 7 dias a 30°C. Foram utilizados dois métodos de extração levando em consideração a estrutura rígida da parede celular dos fungos e, portanto, de difícil acesso ao material proteico. Método I (extração com fenol e precipitação acetato de amônio/metanol), método II (extração com NaCl/ácido clorídrico [0,6 M/0,1%] e precipitação com ácido tricloroacético a 75%). Associado aos diferentes tampões de extração, duas estratégias foram utilizadas para auxiliar na lise celular, uma foi a adição de *beads* de vidros (com 2 ciclos de 5 min de severa agitação alternados com gelo por 1 min). A segunda estratégia foi a submissão do material a 4 ciclos de 2 min de ultrassom (130 W, 20 KHz). As proteínas foram quantificadas com auxílio do Qubit fluorometer (Invitrogen) conforme protocolo do fabricante e visualizadas em gel SDS-PAGE a 12%. **Resultados:** Como resultado, esses métodos produziram diferenças significativas na quantificação de proteínas onde, A, B e C apresentaram 115,0 µg, 183,8 µg e 24 µg, respectivamente para solução com fenol e 12 µg, 10 µg e 2 µg para cloreto de sódio. A visualização de proteínas em gel mostrou maior quantidade de bandas nas amostras extraídas com fenol, corroborando com os dados de quantificação. **Conclusão:** A extração com fenol e precipitação em acetato de amônio/metanol e posterior homogeneização com esferas mostrou-se satisfatória em termos de quantidade e qualidade de material proteico. Assim, nossos resultados fornecem informações úteis para a seleção de métodos de extração adequados para análise proteômica de consórcio de fungos e bactérias.

*Camila Paim Dantas: Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia.camilapdantas@gmail.com