



Categoria: Iniciação Científica
Biotecnologia e biossegurança

Caracterização do perfil proteômico de estirpe de *G. diazotrophicus* e mutantes alterados em proteínas da membrana celular

Vanessa Soares Mendes¹, Leonardo Araújo Terra², Esdras Silva³,
Patrícia Gonçalves Galvão⁴, Kátia Regina dos Santos Teixeira⁵

¹Bolsista Embrapa Agrobiologia, Graduando em Ciência Biológicas, UFRRJ, vanessa_ete@yahoo.com.br

²Bolsista CNPq, Graduando em Ciências Biológicas, UFRRJ, leonardoterra@hotmail.com.br

³Mestrando Ciências do Solo, UFRRJ, esdrasagro@hotmail.com

⁴Bolsista FAPERJ, Pós-Doutoranda, Lab. Genética e Bioquímica Embrapa Agrobiologia, patriciaufrj@yahoo.com.br

⁵Pesquisador Embrapa Agrobiologia, katia@cnpab.embrapa.br

O proteoma reflete a expressão funcional de um genoma e sua caracterização pode fornecer informações das vias metabólicas, além de inúmeras relações indispensáveis para um entendimento mais completo da interação bactéria/hospedeiro/habitat. A *Gluconacetobacter diazotrophicus* é uma bactéria com capacidade de fixação biológica de nitrogênio (FBN) cujo genoma foi sequenciado, e já foram obtidos diversos mutantes em genes associados com suas vias metabólicas. Este estudo caracterizou o perfil proteômico da estirpe selvagem *G. diazotrophicus* PAL-5 em relação aos mutantes que possuem interrupção nos genes de uma proteína transmembrana de função desconhecida (16D10), PQQ-glicose desidrogenase (K314 e K416) e NADH-quinona oxirredutase cadeia M (16G6). As estirpes cultivadas em triplicata, em meio líquido de sais de LGI-P suplementado com glicose e condições de FBN, foram coletas no 4º, 5º e 6º dia de crescimento, para análise de redução de acetileno (ARA) e obtenção do lisado celular por meio de sonicação. As proteínas totais foram quantificadas pelo método de Bradford, e 400 µg de proteínas de cada estirpe foram submetidas à isoeletrofocalização (IEF). Em seguida, as tiras de IEF contendo as proteínas foram equilibradas e submetidas à eletroforese na segunda dimensão (SDS-PAGE). Os géis foram corados com Coomassie Blue coloidal e as imagens foram obtidas por ImageScanner III. As imagens foram analisadas com o programa Image Master v 7.0, sendo encontrados valores médios de 350 spots para a estirpe selvagem PAL-5 e as estirpes mutantes 16G6 e 16D10, enquanto os mutantes K314 e K416 apresentaram valores médios da ordem de 570 spots. Os ensaios de ARA demonstraram atividade de nitrogenase inalterada em todas as estirpes mutantes, em relação a selvagem. As análises comparativas da expressão diferencial do perfil proteômico serão oportunamente apresentadas.

Palavras-chave:

proteínas; eletroforese 2D; mutantes de *G. diazotrophicus*.