

22^o Encontro de Iniciação Científica da UENF14^o Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense10^a Jornada de Iniciação Científica da UFF

IX

Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

II

Congresso Fluminense de Pós-Graduação

17^a Mostra de Pós-Graduação da UENF2^a Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense2^a Mostra de Pós-Graduação da UFF

Ciência, tecnologia e inovação no Brasil: desafios e transformações

ISOLAMENTO E QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS MITOCONDRIAIS OXIDADAS DURANTE A SÍNTESE DE ÁCIDO ASCÓRBICO EM MAMÃO 'GOLDEN'

Thamiris Fernandes de Oliveira, Aline Angelica de Oliveira, Diederson Bortolini Santana, Gláucia Michelle Cosme Silva, Barbara de Oliveira Silva, Luis Miguel Mazorra Morales e Jurandi Gonçalves de Oliveira

O ácido ascórbico (AA) está entre os principais antioxidantes presentes nos vegetais, evitando danos causados pela ação de espécies reativas de oxigênio (ERO), principalmente, sobre as membranas celulares. Porém, a síntese do AA a partir de galactona-1,4-lactona (GalL) por ação da enzima galactona-1,4-lactona desidrogenase (GalLDH) é responsável pela produção de ERO (H_2O_2) dentro das mitocôndrias. O presente trabalho tem como objetivo quantificar as proteínas oxidadas por radicais livres em mitocôndrias purificadas de mamão 'Golden' a partir da biossíntese do ácido ascórbico. Para tanto, foram obtidas mitocôndrias de frutos no estágio I de amadurecimento, padronizados de acordo com a coloração da casca (luminosidade, ângulo *hue* e cromaticidade). As mitocôndrias após isolamento e purificação foram separadas em frações, as quais foram incubadas por 30 min, conforme os tratamentos: 1) incubadas em tampão (controle) e 2) incubadas em GalL 5 mM. O isolamento das proteínas oxidadas foi feito por imunoprecipitação. Após o período de incubação os extratos de mitocôndrias foram precipitados com TCA 20% e submetido ao processo de derivatização com 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNP) 1mM e imunoprecipitação com anticorpo anti-DNP (Sigma-Adrich, St Louis, MO) ligado a proteína A/G Resina ultralink (Thermo Scientific), seguido por eluição com DTT 10 mM. Uma fração adicional de mitocôndrias isoladas foi utilizada como controle para a determinação das proteínas totais. Por fim, as proteínas foram quantificadas pelo método de Bradford. O teor de proteínas totais foi de 365 μ g de proteínas/100 μ L de extrato de mitocôndrias, enquanto que o teor de proteínas oxidadas no controle e no tratamento após a incubação em GalL foi de 61,16 μ g/100 μ L e 78,85 μ g/100 μ L, respectivamente. De acordo com os resultados obtidos, não houve aumento significativo na oxidação de proteínas mitocondriais após a incubação em GalL 5 mM por 30 min. A próxima etapa do trabalho será a caracterização funcional das proteínas oxidadas para verificar o efeito dessa oxidação no metabolismo mitocondrial.

Palavras-chave: Imunoprecipitação, Galactona-1,4-lactona desidrogenase, Peróxido de hidrogênio.

Instituição de fomento: UENF, CNPq, Capes e FAPERJ.