

Comparación de dos métodos de extracción para análisis 2D en fruta de hueso

Amelia Díaz¹, Joaquín Frutos¹, Alfredo García², Esther Giraldo¹

¹Instituto Investigación Agroalimentario Extremeño (INTAEX), ²Centro de Investigación La Orden-Valdesequera. Junta de Extremadura

amelia.diaz@juntaextremadura.es

Un buen protocolo de extracción es fundamental para la identificación proteica. En este trabajo se plantea evaluar en fruta de hueso los dos mejores protocolos de extracción publicados en plantas (A: Fenol y B:TCA/Acetona) según bibliografía consultada [1].

Partimos de 5gr de tejido pulverizado con nitrógeno líquido en el protocolo A y de 1 gr en B, y se procedió según [2] y [3] respectivamente.

El protocolo A extrajo mayor concentración de proteína ($\pm 4,5\mu\text{g}/\mu\text{l}$) que B ($\pm 1\mu\text{g}/\mu\text{l}$), pero el rendimiento fue similar ($\pm 0,3\text{mg}/\text{gr}$). Probablemente porque B requiere una menor manipulación, evitando pérdida proteica, además las interferencias no proteicas podrían estar provocando una sobreestimación al cuantificar [4].

Los patrones 2D obtenidos con ambos protocolos presentaron diferencias cualitativas, con números de spots significativamente inferior en B (± 247 frente a ± 466) y cuantitativas, sin embargo ambos ofrecieron geles de calidad y bien resueltos. Las Proteínas (atran 2, Heat shock protein, catalasa NBS resistance-like protein y actina) presentes en A estuvieron ausentes o poco expresados en B. Probablemente por la solubilización de éstas proteínas bajo diferentes condiciones de extracción [1]. Podemos concluir que el protocolo A en fruta de hueso resuelve mayor número de spots que B.

[1] Sheoran I, Ross A, Olson D, Sawhney V. Compatibility of plant extraction with mass spectrometry for proteome análisis Plant Science 176 (2009)99-174

[2] Giraldo E, Díaz-Méndez A, Miguel-Pintado C, González-Cebrino F, García A. Development and improvement of protein extraction protocol and bidimensional electrophoresis in stone fruit. Acta Horticulturae 2010;147:148.

[3] Natarajan S, Xu C, Bae H, Caperna T, Garret W. Characterization of Storage Proteins in Wild (Glycine soja) and Cultivated (Glycine max) Soybean Seeds Using Proteomic Analysis.

[4] Wang X, Li X, Deng X, Han H, Shi W, Li Y. A protein extraction method compatible with proteomic analysis for eukaryote Salicornia europaea, Electrophoresis 28 (2007) 3976-3987.