

Bertha Dévora Agurto Berdejo
Engenheira Agrônoma

Caracterização das proteínas de reserva em linhagem QPM e estudo bioquímico da enzima homoserina quinase (HK) em sementes de milho (*Zea mays* L.)

Orientador:
Prof. Dr. **RICARDO ANTUNES AZEVEDO**

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor em Ciências. Área de Concentração:
Genética e Melhoramento de Plantas

**Piracicaba
2010**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Berdejo, Bertha Dévora Agurto

Caracterização das proteínas de reserva em linhagem QPM e estudo bioquímico da enzima homoserina quinase (HK) em sementes de milho (*Zea mays* L.) / Bertha Dévora Agurto Berdejo. - - Piracicaba, 2010.
124 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.

1. Aminoácidos 2. Enzimas 3. Linhagens vegetais 4. Milho 5. Proteínas de plantas
6. Sementes I. Título

CDD 633.15
B486c

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Aos meus pais Ludwig Eisntein Agurto Plata e Gladys Edith Berdejo de Agurto

pelo apoio incondicional, conselhos e esperanças...

sem eles nada seria possível.

Aos meus irmãos Ludwig Miguel Agurto Berdejo e Betty Iara Agurto Berdejo

pela presença em todos os momentos.

A minha cunhada Lucia Xutchitl Orcasberro Tarallo de Agurto

pela sua alegria de viver,

sempre "voltando" a fazer parte desta família.

Ao meu filho Gabriel Einstein Agurto de Castro

pela felicidade de ser mãe.

DEDICO

A toda minha família

que sempre me incentivou,

me encorajou,

me dando forças para poder prosseguir.

A VOCÊS

*“Te amo sin saber cómo, ni cuándo, ni de dónde,
te amo directamente sin problemas ni orgullo:
así te amo porque no sé amar de otra manera”*

Pablo Neruda

Ao meu amado marido Ricardo Nery de Castro

por todo o amor...

toda a compreensão...

por sempre estar disposto a me ouvir...

... por ter dado sentido a minha vida.

Esta conquista é tua também!!!

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus por fazer, no fim, tudo dar sempre certo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelos meses de concessão de bolsa e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela bolsa concedida (05/50735-0) e auxílio concedido ao laboratório (2004/16039-4).

À EMBRAPA Milho e Sorgo, pelo material vegetal gentilmente cedido.

À ESALQ, “Gloriosa”, por todos esses anos e ao Departamento de Genética pela oportunidade e liberdade para usufruir de toda sua infraestrutura.

Ao CCIn, obrigada por cuidar tão bem do meu nenê.

Ao Prof. Dr. Ricardo Antunes de Azevedo, por ter acreditado no meu trabalho, pela orientação e pelos aprendizados ao longo destes anos.

Aos professores e funcionários do Departamento.

A Salete, por ser parte constante da minha vida. Mais que uma co-orientadora, uma companheira, uma AMIGA. Sempre me ensinando, me ouvindo, me direcionando e, sempre, tudo de novo. Por ser essa pessoa incansável, estar sempre disposta. Pela amizade. Muito obrigada por tudo!

A Paula, o que dizer... Obrigada magrela!! Por tudo! Conselhos, conversas, choros, alegrias, almoços, jantas, colos, TUDO!!! Muito obrigada por ter entrado na minha vida!

A Priscila, loira, obrigada pela amizade! Pelas noites mal dormidas!

As amigas Aline, Carol, Daí, Flávia, Gicka, Mariana, Milca e Xíua, as meninas do laboratório, por tornarem meus dias mais alegres, pela ajuda na realização deste trabalho, pela companhia de todos os dias.

Ao Rogério, amigo, obrigada!

Aos amigos e colegas de outros laboratórios conquistados durante estes anos, obrigada pelos bons momentos.

Aos que passaram pelo laboratório: Renato, Leo, Pepsi, Vand, Rico, Paty obrigada pelos conselhos e pelas muitas risadas.

Aos amigos que mesmo distantes, de uma forma ou outra sempre se fizeram presentes na minha vida.

Aos Romero Reynoso, por se tornarem minha família aqui no Brasil.

A minha família, no Peru, que sempre torceram por mim, para que tudo desse certo.

Em fim, a todos aqueles que deixaram sua marca em mim ao longo destes anos.

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	15
LISTA DE FIGURAS	17
LISTA DE TABELAS	21
1 INTRODUÇÃO.....	23
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1 A Cultura de Milho.....	25
2.2 Proteínas de Reserva e Aminoácidos	26
2.3 Via Metabólica do Asparatato	28
2.3.1 Regulação da via metabólica do aspartato.....	31
2.3.2 Biossíntese de Treonina.....	33
2.3.3 Catabolismo de Lisina	34
2.4 Opaco-2.....	36
2.5 Plantas Transgênicas.....	37
2.6 Quality Protein Maize (QPM).....	39
3 MATERIAL E MÉTODOS	41
3.1 Material Vegetal	41
3.2 Proteínas de Reserva	43
3.2.1 Extração das Proteínas de Reserva	43
3.2.2 Quantificação das Proteínas.....	44
3.2.3 Eletroforese em Gel de Poliacrilamida-dodecil sulfato de Sódio (SDS-PAGE)	44
3.2.4 Extração dos Aminoácidos de Cada Fração Protéica	45

3.2.5 Separação e Análise da Composição de Aminoácidos de Cada Fração em HPLC	46
3.2.6 Extração dos aminoácidos solúveis.....	46
3.2.7 Dosagem dos aminoácidos totais	47
3.3 Catabolismo do Aminoácido Lisina	47
3.3.1 Preparação dos extratos celulares	47
3.3.2 Ensaio enzimático da lisina 2-oxoglutarato redutase (LKR).....	48
3.3.3 Ensaio enzimático da sacaropina desidrogenase (SDH).....	48
3.4 Homoserina Quinase (HK).....	49
3.4.1 Extração enzimática.....	49
3.4.2 Precipitação com sulfato de amônio	49
3.4.3 Ensaio da HK.....	49
3.4.4 Regulação do ensaio da HK.....	50
3.4.5 Purificação parcial da HK.....	51
3.4.5.1 Cromatografia de troca iônica do tipo <i>step-wise</i>	51
3.4.5.2 Cromatografia de troca iônica do tipo gradiente linear.....	51
3.5 Eletroforese Bidimensional	52
3.5.1 Extração de proteínas totais	52
3.5.2 Primeira dimensão: Focalização Isoelétrica	52
3.5.3 Segunda dimensão: SDS-PAGE.....	53
3.5.4 Fotodocumentação e Análise dos géis.....	53
4 RESULTADOS.....	55
4.1 Proteínas de Reserva	55
4.1.1 Perfil SDS-PAGE das frações protéicas	57
4.2 Análise dos aminoácidos	59

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

