



PURIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DE GLIADINAS DE CULTIVARES DE TRIGO

Clédson Calixto de Oliveira¹, Antonio Fernando de Melo Vaz²

RESUMO

O glúten é uma proteína composta por cadeias protéicas de gliadina e glutenina. α/β , γ e ω -gliadinas são alérgenos alimentares com graus variáveis de alergenicidade a depender da cultivar de trigo. O objetivo deste trabalho foi purificar e identificar as sequências polipeptídicas de gliadinas das cultivares “trigo vermelho duro de inverno” e “trigo primavera”. O isolamento da gliadina foi realizado a partir da dissolução de grãos triturados de trigo em solução de NaCl 1,0 M. Ao precipitado, após centrifugação, foi adicionada solução etanólica 70% (v/v). O sobrenadante após centrifugação foi liofilizado obtendo-se a gliadina. A purificação foi realizada através de cromatografia de troca iônica em CM-Celulose. Para α/β e γ -gliadinas foi utilizado tampão Acetato de glicina 10 mM, pH 4,6 em Uréia 3 M com um gradiente linear de 0-250 mM de NaCl. Para a ω -gliadina, o tampão Acetato de sódio 5 mM, pH 3,5 em uréia 1 M com gradiente de 5-100 mM de NaCl foi usado. SDS-PAGE e Eletroforese Bidimensional (2-DE) associada com Espectrometria de Massa (MALDI-TOF/TOF) foram utilizadas na identificação das sequências polipeptídicas. As cromatografias em CM-celulose foram eficientes em purificar as frações da gliadina, com massas moleculares de 30-75 kDa. Dezesesseis spots foram identificados por 2-DE. Em conclusão, a elucidação das sequências das α/β , γ e ω -gliadinas possibilitará a identificação dos epítomos lineares e conformacionais.

Palavra-chaves: Alergia, Eletroforese Bidimensional, Glúten.

PURIFICATION AND SEQUENCING OF GLIADINS FROM WHEAT CULTIVARS

ABSTRACT

Gluten is a protein composed by chain protein of gliadin and glutenin. α/β , γ and ω -gliadins are food allergens with varying degrees of allergenicity depending on the wheat cultivar. The aim of this work was to purify and identify the sequences of gliadins from cultivars "hard red winter wheat" and "spring wheat". The isolation of gliadin was performed by dissolving wheat grain milled in a solution of 1.0 M NaCl. To the precipitate after centrifugation was added 70% ethanol solution (v/v). Then, the supernatant after centrifugation was lyophilized to yield gliadin. The purification was performed by ion exchange chromatography on CM-cellulose. For α/β and γ -gliadins was used 10 mM acetate/glycine buffer, pH 4.6 in 3 M urea with a linear gradient of 0-0.25 mM NaCl. For ω -gliadins was used 5 mM sodium acetate buffer, pH 3.5 in 1 M urea with a linear gradient of 5-100 mM NaCl. SDS-PAGE and Two-dimensional electrophoresis (2-DE) with Mass Spectrometry (MALDI-TOF/TOF) were used to identify polypeptide sequences. CM-cellulose chromatography was efficient in purifying the gliadins with molecular mass of 30-75 kDa. Sixteen spots were identified and sequenced by 2-DE. In conclusion, the elucidation of the sequences of the α/β , γ and ω -gliadins enable the identification of linear and conformational epitopes.

Keywords: Allergy, Two-dimensional Electrophoresis, Gluten.

¹Aluno do Curso de Medicina Veterinária, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, UFCG, Campina Grande, PB, e-mail: cledsonoliveira16@gmail.com

²Bioquímica, Professor Doutor, Unidade Acadêmica da Medicina Veterinária, UFCG, Patos, PB, e-mail: antonio.melo@ufcg.edu.br