

Standardization of red onion methanolic extract to detection of phosphorylated proteins in sds-page

Estandarización de un extracto metanólico de cebolla roja para la detección de proteínas fosforiladas en sds-page

Erika Rodríguez-Cavallo, Karen Arrieta Vergel, Isis Gaviria Figueroa, Albeiro Marrugo-Padilla and Darío Méndez-Cuadro

Analytical Chemistry and Biomedicine Group. University of Cartagena, Faculty of Pharmaceutical Science, Campus of Zaragocilla.

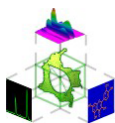
erodriguezc1@unicartagena.edu.co; dmendezc@unicartagena.edu.co

Presentación Poster Presencial 19

ABSTRACT

Protein phosphorylation is a reversible post-translational modification, associated with countless vital cell processes such as signal transduction, cell differentiation, development, cell cycle control and metabolic pathway regulation. Currently, the detection and identification of phosphorylated proteins is carried out by mass spectrometry, immunoassays and staining with specific labeling reagents. More recently, quercetin flavonoid has been proposed as tag for staining phosphorylated proteins in denaturing polyacrylamide and sodium dodecyl sulfate (SDS-PAGE) gels because of their good sensitivity, specificity and relative low cost compared to commercially available synthetic fluorophores. Quercetin is a flavonol soluble in methanol, which is frequently found in high concentrations in both fruits and vegetables, especially in red onion peels (*Allium cepa*). Under this context, a rapid homogenization process of onion peel in acidic methanol was standardized (5 min); followed by a centrifugation step (10,000 rpm, 10 min, 4 ° C) to obtain the total extract. Then, flavonoid content was determined by fluorimetry and the extract obtained was used for staining electrophoresed phosphorylate (casein) and non-phosphorylated (BSA) protein patterns in SDS-PAGE. Variables such as extract volume, amount of proteins and wavelengths of excitation and emission were established for the correct visualization of phosphorylated protein bands in a Chemidoc transilluminator system (Biorad). The results obtained to date allow us to propose the use of the extract obtained as promising for the staining of phosphorylated proteins in SDS-PAGE.

Key words: Antioxidants, flavonoids, fruits and protein carbonylation.



Revista Productos Naturales

ISSN 1916-2413



XIV Congreso Colombiano de Fitoquímica

Julio 27, 2022, 5(2):154-155

Disponible en línea en

<https://nozomiscience.org/index.php/rpn/article/view/6909/version/7667>

doi: <https://doi.org/10.3407/rpn.v5i2.6909>



RESUMEN

La fosforilación proteica, es una modificación postraducciona reversible, asociada a un sin número de procesos celulares vitales como la transducción de señales, diferenciación celular, desarrollo, control del ciclo celular y regulación de rutas metabólicas. Hoy día, la detección e identificación de proteínas fosforiladas, se realiza por espectrometría de masas, inmunoensayos y tinción con reactivos específicos de marcaje. Así, se ha propuesto al flavonoide quercetina como una etiqueta para la tinción de proteínas fosforiladas en geles desnaturizantes de poliacrilamida y sodio dodecilsulfato (SDS-PAGE) por su buena sensibilidad, especificidad y relativo bajo costo frente a los fluoróforos sintéticos comercialmente disponibles. La quercetina, es un flavonol soluble en metanol, que se encuentra frecuentemente en altas concentraciones tanto en frutas como verduras, en especial en las cáscaras de cebolla roja (*Allium cepa*). Bajo este contexto, se estandarizó un proceso rápido de homogenización de la cáscara de cebolla en metanol acidulado (5 min); seguido de una etapa de centrifugado (10.000 rpm, 10 min, 4°C) para la obtención del extracto total. Luego, se determinó el contenido de flavonoides por fluorimetría y el extracto obtenido fue usado para la tinción de patrones de proteínas fosforiladas (caseínas) y no fosforiladas (BSA) electroforadas en SDS-PAGE. Variables como volumen de extracto, cantidad de proteínas y longitudes de onda de excitación y emisión fueron establecidas para la correcta visualización de las bandas de proteínas fosforiladas en un sistema transiluminador Chemidoc (Biorad). Los resultados obtenidos a la fecha permiten, proponer el uso del extracto obtenido como promisorio para la tinción de proteínas fosforiladas en SDS-PAGE.

Palabras clave: Antioxidantes, flavonoides, proteínas carboniladas, frutas.

Agradecimientos:

Los autores agradecen a la Universidad de Cartagena, por el apoyo financiero a los proyectos de Actas 095-2019 y 061-2019.

Referencias

- [1]. Lee, C.R., et al., *Determination of protein phosphorylation by polyacrylamide gel electrophoresis*. J Microbiol, 2019. **57**(2): p. 93-100
- [2]. Ardito, F., et al., *The crucial role of protein phosphorylation in cell signaling and its use as targeted therapy (Review)*. Int J Mol Med, 2017. **40**(2): p. 271-280.
- [3]. Wang, X., et al., *Phosphoprotein staining for sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis using fluorescent reagent morin hydrate*. Anal Biochem, 2013. **435**(1): p. 19-26.
- [4]. Wang, X., et al., *Simple detection of phosphoproteins in SDS-PAGE by quercetin*. EuPA Open Proteomics, 2014. **4**: p. 156-164.