

**Potpuna karakterizacija fazeolina, izoliranog iz graha  
(*Phaseolus vulgaris* L.) dvodimenzionalnom elektroforezom i  
masenom spektrometrijom**

**Sažetak**

Fazeolin je glavni skladišni protein graha. Sastoji se od kompleksa heterogenih glikoproteina s različitim sastavom polipeptida, koje kodira porodica gena. Analizom fazeolina jednodimenzionalnom elektroforezom (SDS-PAGE) mogu se dobiti podaci o raznolikosti divljih i kultiviranih sojeva graha. U ovom su radu detaljno opisani rezultati analize fazeolina, izoliranog iz kultiviranih sojeva graha s različitih područja uzgoja (središnje Amerike i Anda), dobivenih dvodimenzionalnom elektroforezom (2-DE) i masenom spektrometrijom. Visokokvalitetni 2-DE gelovi otkrili su vrlo složenu strukturu fazeolina u svim kultivarima. Uzorci fazeolina iz jednog kultivara bili su vidljivi u obliku horizontalne linije, sastavljene od parova elektroforetskih točaka koje predstavljaju uzorke s različitim izoelektričnim točkama i molekularnim masama. Stupanj sličnosti uzoraka fazeolina procijenjen je prema postotku točaka koje su zajedničke paru kultivara. Analizom proteomske udaljenosti tipova fazeolina pomoću nemetričke multidimenzionalne skale otkriveno je da su 2-DE profili fazeolina sličniji u kultivarima što potječu iz istoga genetskog izvora. Veća je razlika bila među kultivarima podrijetlom iz Anda. Rezultati analize genetičkih varijacija PCR SCAR markera fazeolina izoliranog iz sjemena bili su u skladu s podacima dobivenim dvodimenzionalnom elektroforezom, a osigurali su dodatne informacije o razlikama među kultivarima. Nadalje, istražena je molekularna osnova složenosti 2-DE uzoraka fazeolina. Identifikacijom elektroforetskih točaka fazeolina na 2-DE gelovima pomoću MALDI-TOF i MALDI-TOF/TOF MS otkriveno je da svaki par točaka sadržava samo jedan tip ( $\alpha$  ili  $\beta$ ) polipeptida fazeolina, te da su  $\alpha$ -polipeptidi imali veću molekularnu masu, a  $\beta$ -polipeptidi manju. Usto, djelomičnom i cjelovitom deglikozilacijom ekstrakata proteina pomoću enzima PGNaza F utvrđeno je da su razlike između elektroforetskih točaka svakoga para donekle uvjetovane glikozilacijom istoga tipa polipeptida. Dobiveni podaci pridonose istraživanju

genetičke različitosti populacije graha, što je posljedica prisutnosti različitih tipova fazeolina u sjemenkama.

*Ključne riječi:* grah, glikoproteini, masena spektrometrija, fazeolin, *Phaseolus vulgaris*, proteom sjemena, dvodimenzionalna elektroforeza