

GABRIELA BARBOSA ROSSI

**COMPARAÇÃO DO PROTEOMA DO FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris*) GENETICAMENTE MODIFICADO COM SUA ISOLINHA USANDO A ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para obtenção do título de bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Carolina Maisonnave Arisi  
Semestre: 2013-2

RESUMO

A área plantada com culturas geneticamente modificadas (GM) apresentou um aumento considerável nos últimos anos. No Brasil, um total de 37 eventos foram aprovados para comercialização pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), incluindo variedades de milho, soja, algodão e o feijoeiro GM, Embrapa 5.1. O presente trabalho teve como objetivo utilizar a análise proteômica como ferramenta de comparação entre o proteoma do feijoeiro Embrapa 5.1 e sua isolinha não-GM com posterior visualização dos resultados pela análise de componentes principais (PCA). Grãos de feijoeiro da variedade Pontal e Pontal GM foram cultivados nas mesmas condições para obtenção das folhas que foram utilizadas nas análises. Para identificar as amostras utilizadas foi realizada a reação em cadeia da polimerase (PCR) com iniciadores específicos para detecção do feijoeiro Embrapa 5.1. Na análise proteômica, todos os procedimentos foram realizados simultaneamente para as duas amostras, em duas repetições. Foram analisados os perfis proteicos obtidos após extração de proteínas solúveis, quantificação e separação por eletroforese bidimensional (2DE), onde foram empregados, na focalização isoeletrica (IEF), gradientes de pH 3-10 e pH 4-7. Os géis 2DE obtidos com IEF pH 4-7 foram escolhidos para análise e comparação no programa ImageMaster 2D Platinum. Observou-se um número total de *spots* detectados entre 611 a 621 para a amostra Pontal GM e 642 a 657 para sua isolinha não-GM. O número de *spots* comuns a todos os géis variou de 605 a 642 e as porcentagens de *spots* correspondentes ficaram entre 98 e 99%. Os coeficientes angulares e os coeficientes de correlação variaram nos seis géis de 0,96 a 1,13 e 0,86 a 0,93, respectivamente. A PCA foi realizada utilizando a linguagem R, onde 523 *spots* que estavam presentes em todos os géis foram analisados considerando a porcentagem de volume de cada um, com dados transformados em log2 e normalizados. Observou-se menor variação de intensidade dos *spots* entre os extratos de cada amostra do que entre os extratos das duas amostras. As análises realizadas possibilitaram a comparação do acúmulo de proteínas nas amostras de feijoeiro GM e sua isolinha.

Palavras-chave: Feijoeiro GM. Análise proteômica. Eletroforese bidimensional. Análise de Componentes Principais.

ABSTRACT

In recent years the area of cultivated genetically modified (GM) crops has considerably increased. A total of 37 events are already approved by Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) for commercialization in Brazil, including varieties of maize, soybean, cotton and GM common bean Embrapa 5.1. The present work aimed to use proteomic analysis as a comparison tool between Embrapa 5.1 common bean and its non-transgenic counterpart, and further to visualize the results by principal component analysis (PCA). Common bean Pontal non-GM and GM grains were grown under the same conditions to obtain the leaves which were used for the analyses. Identification of samples was performed by polymerase chain reaction (PCR), using specific primers for detection of common bean Embrapa 5.1. For the proteomic analysis, all procedures were performed simultaneously for both samples, in two different days. Protein profiles were analyzed after soluble protein extraction, quantification and separation by two-dimensional electrophoresis (2DE). Isoelectric focalization (IEF) was performed using pH gradient ranging between 3-10 and 4-7. Gels obtained from IEF performed in pH 4-7 were chosen for analysis and compared using ImageMaster 2D Platinum software. A total of detected spots between 611 and 621 were obtained for Pontal GM sample and between 642 and 657 for its non-GM counterpart. The number of matched spots common to all gels ranged from 605 to 642 and percentages of matched spots corresponded to 98 – 99%. The slopes and correlation coefficients varied between 0,96 – 1.13 and 0.86 – 0.93, respectively. PCA was performed using R Language, where 523 spots present simultaneously in all gels were analyzed using data from their percentage of volume after log<sub>2</sub> transformation and normalization. Variation between variables of the same sample extracts were smaller than those observed between the two samples. The analyses performed in the present study enabled the genomic detection and comparison between protein expression in common bean GM and non-GM samples.

**Keywords:** Common bean GM. Proteomic Analysis. Two-dimensional electrophoresis. Principal Component Analysis.