

Efecto de la activación linfocitaria sobre el fosfoproteoma del linfocito T primario humano: estudio mediante marcaje isotópico y espectrometría de masas

V.Casas, M.Gay, M.Carrascal, E. Gelpí, J. Abián

LP-CSIC/UAB, IIBB-CSIC, IDIBAPS, Rosellón 161, 7 Planta, 08036 Barcelona, Spain

vcasaslopez@gmail.com

Los procesos de fosforilación-defosforilación proteica juegan un papel primordial en prácticamente todos los aspectos de la función celular. La caracterización de los componentes del fosfoproteoma y de sus perfiles de fosforilación en diferentes condiciones es, en consecuencia, de vital importancia para la comprensión de los mecanismos celulares implicados en la enfermedad y para el desarrollo de nuevos fármacos dirigidos a modular la actividad de quinasas y fosfatasas.

En este trabajo se muestran los cambios cuantitativos producidos en el fosfoproteoma de linfocitos T humanos primarios tras su activación durante 15 minutos y 2 horas con PMA/Ionomicina. Los extractos proteicos de las células en reposo y activadas se digirieron con tripsina, se marcaron con TMT y se mezclaron. La mezcla se fraccionó mediante SCX y los fosfopéptidos se enriquecieron con IMAC y TiO₂ (Carrascal et al. JPR. 2008). Finalmente, los extractos se analizaron por LC-MS/MS para la identificación y cuantificación de las secuencias utilizando una combinación de barridos CID y PQD en un instrumento de trampa iónica lineal (LTQ) o de CID y HCD en un instrumento de alta resolución (Orbitrap-LTQ).

Las secuencias caracterizadas se almacenan en la base de datos pública LymPHOS (<http://lymphos.org>). Estos datos constituyen el único mapa de puntos de fosforilación disponible para células T humanas.