

**P12**

**Proteómica redox diferencial: identificación de proteínas oxidadas reversiblemente en respuesta a hipoxia**

Alicia Izquierdo-Álvarez<sup>1</sup>, Elena Ramos<sup>1</sup>, Joan Villanueva<sup>2</sup>, Rubén Fernández-Rodríguez<sup>1</sup>, Daniel Tello<sup>1</sup>, Montserrat Carrascal<sup>2</sup>, Antonio Martínez-Ruiz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Inmunología, Hospital Universitario de La Princesa, Instituto de Investigación Princesa (IP), Madrid, España; <sup>2</sup> Laboratorio de Proteómica-CSIC/UAB, IIBB-CSIC, IDIBAPS, Barcelona, España

[izquierdo.alicia@yahoo.es](mailto:izquierdo.alicia@yahoo.es)

Las células y los organismos vivos han desarrollado diversos sistemas para la detección de la disponibilidad de O<sub>2</sub>, permitiéndoles adaptarse a las situaciones de hipoxia, activando respuestas específicas, una de las cuales pasa a través de los factores inducibles por hipoxia (HIF). Hay numerosas evidencias que muestran el aumento de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en situaciones de hipoxia, especialmente desde la mitocondria, que implican la activación de la ruta de HIF. Las ROS por un lado alteran el equilibrio redox de la célula, conduciendo a una situación de estrés. Por otro lado se emplean para señalización celular y transmisión de dichas señales mediante la modificación reversible del estado de oxidación de los residuos de cisteína de las proteínas.

Hemos empleado una metodología de proteómica redox que implica el marcaje fluorescente de las cisteínas reversiblemente oxidadas para la evaluación de este tipo de modificaciones en células endoteliales sometidas a períodos cortos de hipoxia (2 h) y/o posterior reoxigenación. Mediante electroforesis bidimensional, obtenemos un patrón de proteínas específicas diferencialmente oxidadas, diferente del patrón que se obtiene cuando empleamos un agente oxidante general como la diamida. Hemos identificado dianas específicas con el fin de profundizar en el posible mecanismo de la señalización por ROS en condiciones de hipoxia. Mediante técnicas de derivatización complementarias se ha confirmado la modificación en dianas específicas. Además, mediante LC-MS/MS dirigida en trampa iónica, se han identificado residuos concretos de cisteína oxidados en alguna de las proteínas previamente identificadas.

Este tipo de técnicas se han utilizado con frecuencia para identificar proteínas que presentan diferencias de oxidación tras tratamientos fuertemente oxidantes, pero nosotros mostramos que puede ser útil para situaciones fisiológicas que producen menor oxidación pero en proteínas específicas.