

## Estudio de los cambios en el proteoma de macrófagos murinos al interactuar con *Candida albicans*

Reales-Calderón JA<sup>1</sup>, Martínez-Solano L<sup>3</sup>, Martínez-Gomariz M<sup>2</sup>, Molero G<sup>1</sup>, Gil C.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Dpto. de Microbiología II, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid. <sup>2</sup> Unidad de Proteómica, Universidad Complutense, Parque Científico de la Comunidad de Madrid. <sup>3</sup> Departamento de Biotecnología Microbiana. Centro Nacional de Biotecnología. CSIC.

### Introducción

Los macrófagos son células del sistema inmunitario cuyo papel en la lucha frente a las candidiasis sistémicas es fundamental. Por un lado, actúan como célula fagocítica y por otro, secretan citoquinas que son capaces de activar a otras células y de dirigir la respuesta inmunitaria. Con el fin de profundizar en el papel de dichas células, hemos realizado un estudio proteómico de la respuesta de una línea celular de macrófagos murinos (RAW 264.7) frente a células de una cepa silvestre de *Candida albicans* (SC5314) tanto vivas como inactivadas por calor (Martínez-Solano 2006; Martínez-Solano 2008, submitted.). La identificación de proteínas de expresión diferencial nos indica que, en conjunto, tras 45 minutos de interacción, tanto las células vivas como inactivadas de *C. albicans* provocan en el macrófago un aumento de las proteínas implicadas en la reorganización del citoesqueleto y de algunas posiblemente implicadas en protección frente a la apoptosis. Sin embargo, las células vivas provocan una reacción fundamentalmente pro-inflamatoria, a diferencia de las inactivadas por calor, frente a las cuales la respuesta es fundamentalmente anti-inflamatoria. Con el fin de profundizar en la reacción de los macrófagos frente a *C. albicans*, en el trabajo actual, hemos puesto a punto la metodología para realizar el estudio de cuatro fracciones subcelulares: citosol, membrana, núcleo y citoesqueleto y hemos aumentado el tiempo de interacción a 3h.

### Material y métodos

Las células de la línea celular murina RAW 264.7 se han enfrentado a células de *C. albicans* SC5314 durante 3h. Se han extraído 4 fracciones enriquecidas en citosol, membrana, núcleo y citoesqueleto utilizando el kit de Calbiochem; **ProteoEx-**

**tract**<sup>®</sup> **Subcellular Proteome Extraction Kit**. El estudio de expresión diferencial de las proteínas de los diferentes subproteomas se está realizando con tecnología DIGE.

### Resultados y conclusiones

Hemos realizado mapas proteómicos con la tecnología DIGE y se han encontrado 120 proteínas de expresión diferencial de entre las cuatro fracciones: citosol, núcleo, membrana y Citoesqueleto, de las cuales se han identificado 21. Actualmente, estamos estudiando las funciones algunas de estas proteínas y su posible función durante la interacción. Hay que destacar el trabajo realizado con la proteína Galectina-3, un receptor de los macrófagos murinos para *C. albicans*, la cual aumenta su expresión en la fracción enriquecida en membranas tras la interacción con *C. albicans*. Además, por western blot, hemos comprobado la aparición y desaparición de diferentes especies proteicas, tanto en la fracción de membrana, como en la de citosol. Asimismo, estamos realizando experimentos de inmunolocalización de dicha proteína durante la interacción.

Este trabajo abre grandes perspectivas en el estudio de la interacción macrófago-*C. albicans*, pudiendo permitir el descubrimiento de nuevas estrategias en la terapia de las candidiasis sistémicas y de nuevos factores de virulencia de la levadura y, por tanto, de nuevas dianas anti-fúngicas.

### Bibliografía

- Martínez-Solano L, Nombela C, Molero G, Gil C. Proteomics, 2006. Suppl 1:S133-44.
- Martínez-Solano L, Nombela C, Molero G, Gil C., submitted, 2008.