

Análisis proteómico de proteínas de membrana ancladas a glicosilfosfatidilinositol en *Candida albicans*

Llama-Palacios, A., Cabezón-Soriano, V., Monteoliva, L., Nombela, C., y Gil, C.

Dpto. Microbiología II, Facultad de Farmacia (UCM). Plaza Ramón y Cajal s/n, Madrid, Spain.

Introducción

Candida albicans es el principal hongo patógeno en humanos, particularmente en pacientes inmunocomprometidos. Es un hongo polimórfico que crece tanto en forma de levadura como de hifa (Martínez-López, R. et al., 2004). Se sabe que las proteínas de membrana plasmática ancladas a glicosilfosfatidilinositol (GPI) juegan un importante papel en la morfogénesis del hongo y en la organización de la pared celular. Estas proteínas conservan una serie de características: un péptido señal en el extremo N-terminal para su entrada en la ruta de secreción y un dominio hidrofóbico en el extremo C-terminal que será eliminado y sustituido por el anclaje GPI (Richard, M. et al., 2002).

Material y métodos

Para obtener una visión general de las proteínas de membrana ancladas a GPI en *C. albicans*, hemos puesto a punto un método de extracción y posterior identificación mediante herramientas proteómicas. La aproximación fue partir de protoplastos de *C. albicans* (los protoplastos son células sin pared celular). Tras lisar estos protoplastos se tratan con carbonato sódico (para abrir y lavar los microsomas) y se ultracentrifuga para obtener una muestra enriquecida en membranas plasmáticas. Estas membranas se extraen con Tritón X-114 (para enriquecer en proteínas de membrana (proteínas hidrofóbicas)) y se tratan con una enzima, la fosfatidilinositol fosfolipasa C (PI-PLC), que hidroliza el fosfatidilinositol liberando las proteínas GPI solubles de la membrana. Posteriormente, se procede a la identificación de estas proteínas mediante cromatografía líquida acoplada a espectrómetros de masas tipo MALDI-TOF-TOF y trampa iónica lineal.

Resultados y conclusiones

Hasta el momento se han identificado las siguientes proteínas: Ca0188 (proteína de función desconocida); Ca5476 (proteína de función desconocida); Ca3867 (proteína Phr2), implicada en morfogénesis y virulencia; Ca4800 (proteína homóloga a Phr1, Phr2 y Phr3), implicada en la síntesis de la pared celular y en el mantenimiento de ésta; Ca3115 (proteína Ecm33.3), implicada en la organización de la pared celular, en virulencia y en morfogénesis; Ca4180 (proteína Exg2), implicada en el ensamblaje del β -glucano en la pared celular; Ca4857 (proteína Phr1), implicada en el mantenimiento de la pared celular, en morfogénesis y en virulencia; Ca0605 (proteína Utr2), implicada en la adhesión celular, en la biogénesis de la pared celular y en virulencia; Ca1720 (proteína de función desconocida), Ca4700 (proteína Sap9), parece ser que es requerida en patogénesis; Ca3834 (proteína Plb3), proteína con actividad fosfolipasa. Para completar el estudio de estas proteínas queremos analizar su expresión diferencial en diversas condiciones como el dimorfismo levadura-hifa y en la interacción con el macrófago. Los resultados que se obtengan nos darán información sobre la posible implicación de estas proteínas en la virulencia del hongo.

Referencias

- Martínez-López, R., Monteoliva, L., Diez-Orejas, R., Nombela, C., Gil, C., *Microbiology* 2004, 150, 3341-3354.
- Richard, M., Ibata-Ombetta, S., Dromer, F., Bordon-Pallier, F., Jouault, T., Gaillardin, C., *Mol Microbiology* 2002, 44, 841-853.