

O31

Caracterización del proteoma de las envolturas interna y externa de cloroplasto de *Pisum sativum*

Elain F. Gutierrez-Carbonell¹, Giuseppe Lattanzio¹, Jorge Rodriguez-Celma¹, Daniela Duy², Julia Kehr³, Katrin Philippar², Ana Flor López-Millán¹, Javier Abadía¹

¹Plant Stress Physiology Group, Departamento de Nutrición Vegetal, Estación Experimental de Aula Dei, CSIC, Apdo. 13034, 50080 Zaragoza, España; ²Plant Biochemistry and Physiology, Department Biology I, Ludwig-Maximilians-Universität München, Großhadernerstr. 2-4, D-82152 Planegg/Martinsried, Germany; ³Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (UPM-INIA), Campus Montegancedo, Autopista M40, km38, 28223-Pozuelo de Alarcón, Madrid, España

jabadia@ead.csic.es

El cloroplasto está rodeado por un sistema de doble membrana esencial para los procesos metabólicos que se llevan a cabo en este orgánulo. Las proteínas de estas membranas están implicadas en el transporte de metabolitos y son necesarias para el funcionamiento del cloroplasto. Sin embargo, existen pocos estudios de este subproteoma, debido principalmente a la baja solubilidad de las proteínas presentes y a la dificultad de obtener preparaciones con suficiente pureza de ambas membranas (externa e interna) por separado. El objetivo del trabajo consistió en la caracterización del patrón proteico de las envolturas cloroplásticas externa e interna de *Pisum sativum* por medio de electroforesis bidimensional. A partir de extractos enriquecidos en proteínas de envolturas interna (EI) y externa (EE) de cloroplasto de *Pisum sativum* se ha realizado un mapeo, utilizando la electroforesis bidimensional (IEF-SDS-PAGE) como método de separación de proteínas. Para cada envoltura se realizaron dos réplicas biológicas y cuatro técnicas (8 geles). La focalización isoelectrónica se realizó en gradientes lineales de pH 3-10 y 5-8 para EI y EE, respectivamente (IPG, Bio-Rad). Se cargaron 45 y 80 µg de proteína para EI y EE, respectivamente. Los geles obtenidos fueron teñidos con Coomassie coloidal y se analizaron con el programa PDQuest 8.0. Se consideraron "spots" consistentes aquellos que aparecieron en los 8 geles correspondientes a cada envoltura, obteniéndose 160 "spots" para EI y 181 para EE. La combinación de técnicas de espectrometría de masas (MALDI-TOF y nLC-MS/MS) permitió la identificación de más de un 50% de los "spots" presentes. Se han identificado proteínas específicas descritas previamente en cada una de estas envolturas. Análisis preliminares de las proteínas identificadas indican que la EI presenta un mayor número de proteínas implicadas en procesos de transporte, confirmando la mayor selectividad de esta membrana en el transporte de metabolitos.