

## 2. MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES

### Herramientas de cuantificación en fosfoproteómica: el uso de la tecnología híbrida triple cuadrupolo- trampa de iones 4000 QTRAP

Serna A.

Applied Biosystems Madrid.

La cuantificación es una técnica dentro de la proteómica que está adquiriendo una importancia creciente como herramienta fundamental para el entendimiento de numerosos procesos biológicos. En transducción de señal o en la búsqueda de biomarcadores, pequeños cambios en los niveles de ciertas proteínas o de sus isoformas, pueden en realidad esconder la clave para entender mejor ciertos mecanismos celulares. La fosforilación es una modificación post-traduccional que altera o modifica las características fisicoquímicas de las proteínas. Este cambio puede afectar a su solubilidad, a su estructura terciaria y en definitiva a su actividad o función. Estas variaciones no son más que los detonadores de otros cambios más profundos que van a concluir con una respuesta celular a un determinado estímulo. La fosforilación afecta a cerca del 30% del proteoma, y alrededor del 10% de esas fosforilaciones, representan cambios que regulan procesos

de vital importancia en la célula. Parece obvio por tanto, resaltar la importancia no solo de la identificación de las proteínas fosforiladas y sus residuos de fosforilación, sino sobre todo, de la cuantificación de los cambios en el equilibrio entre las distintas isoformas. Hemos de entender la fosforilación como un proceso altamente dinámico. Trabajar en la identificación de sitios de fosforilación requiere una sólida estrategia y equipos que gocen de cierta versatilidad y sensibilidad en el análisis. Si además queremos cuantificar los cambios que están ocurriendo, necesitamos equipos que ofrezcan un alto rango dinámico y una estrategia de cuantificación reproducible. En la siguiente exposición se destacará el papel que puede desempeñar en estos estudios los métodos de marcaje isobárico como el iTRAQ y la importancia de los métodos dirigidos de análisis (MRMs) empleando triples cuadrupolos, en la caracterización y cuantificación de fosfopéptidos.

### Monomeric and heterodimeric differential phosphorylation pattern in the Cyclin-A2/CDK2 complex

Casado-Vela, J.; Martínez, J.; Romero, S.; Casal, I.J.

Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas, CNIO, Madrid

The Cyclin-A2/CDK2 is a protein heterodimer with kinase activity that plays a key role in centrosome duplication and meiotic cell division. In this study we used baculovirus-infected cells for the production of both, monomers and the heterodimer. We used a segmented linear ion trap mass spectro-

meter to identify the phosphorylated residues in *Mus musculus* Cyclin-A2 and CDK2 proteins, after individual expression in baculovirus and after formation of the heterodimer. By using a combination of trypsin and chymotrypsin digests to increase the sequence coverage and data dependent neutral loss