

P50

Validación de la técnica de análisis masivo (“shotgun”) con péptidos no marcados para el estudio del proteoma de *Botrytis cinerea*

Raquel González Fernández¹, Kerman Aloria², Inmaculada Redondo¹, Jesus M. Arizmendi³, Jesús V. Jorrín Novo¹

¹ Grupo de Bioquímica y Proteómica Vegetal y Agroforestal, Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Córdoba, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3, 14071-Córdoba, España (<http://www.uco.es/investiga/grupos/probiveag>)

(<http://www.uco.es/botrytis>); ² Proteomics Core Facility-SGIKER, Universidad del País Vasco, 48940-Leioa, España; ³ Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad del País Vasco, 48940-Leioa, España

g42gofer@uco.es

La estrategia más utilizada para el análisis proteómico de especies vegetales y fúngicas está basada en 2-DE-MS. Con esta aproximación se han identificado unas 300 especies proteicas en micelio del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* [1]. El uso de aproximaciones complementarias, como la “shotgun” con péptidos no marcados, posibilitaría, por una parte, una mayor cobertura del proteoma y, por otra, una menor manipulación de la muestra y la cuantificación no dependiente de la unión a colorantes o marcas. Dichas técnicas han de ser optimizadas al sistema experimental en cuestión y validada previamente a su uso en proteómica comparativa.

En este estudio presentamos dicho trabajo preliminar, utilizando como sistema experimental micelio del hongo fitopatógeno *B. cinerea*. Pretendemos determinar cuántas proteínas pueden ser identificadas y cuántas cuantificadas con confianza.

Para ello, se analizaron 5 diluciones de extractos de proteína de micelio (1:1, 1:2, 1:5, 1:10, 1:20), que tras ser sometidos a digestión trípica se analizaron por LC-MS^E, utilizando un nanoUPLC acoplado a un SYNAP HDSM (Waters Corporation) [2].

Se identificaron y cuantificaron con confianza 80 especies proteicas (con al menos 3 péptidos detectados y presentes en las 5 diluciones), de las cuales 52 tenían un CV<25%. La tendencia general para los distintos factores de dilución fué similar para la mayoría de las proteínas, con valores por debajo de los deducidos a partir de la dilución.

[1] Gonzalez-Fernandez R y Jorrin-Novo JV. Contribution of Proteomics to the Study of Plant Pathogenic Fungi. J Proteome Res 2011; Article ASAP; DOI: 10.1021/pr200873p.

[2] Kerman A, et al. Evaluation of MS^E based protein quantification methods. Proteómica 2010; 5:99-101.