

Metodologías proteómicas para el análisis de proteínas carboniladas: modificación post-traduccionales oxidativa

Manuel Pazos, Lucía Méndez, Isabel Medina

Instituto de Investigaciones Marinas (CSIC), Eduardo Cabello 6, 36208 Vigo

mpazos@iim.csic.es

El estrés oxidativo está implicado en un amplio espectro de enfermedades, tales como cáncer, arteriosclerosis y enfermedades neurodegenerativas, y en el proceso natural de envejecimiento. El exceso de radicales libres y otros oxidantes generados en condiciones de estrés producen modificaciones post-traduccionales irreversibles que alteran la función celular de las proteínas. La oxidación de proteínas también repercute negativamente en la calidad de alimentos, como productos cárnicos y pesqueros. La carbonilación es la modificación oxidativa más estudiada, en parte debido a que los carbonilos proteicos son productos mayoritarios de reacción con muchas especies oxidantes.

Western blots dirigidos hacia proteínas marcadas con 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) han sido tradicionalmente empleados para la identificación de proteínas carboniladas. Recientemente, se han desarrollado procedimientos proteómicos alternativos a los métodos inmunoquímicos, basados en la afinidad avidina/biotina, derivatización con el reactivo Girard P o marcaje con fluorescina 5-tiosemicarbazida (FTSC), para el análisis de proteínas carboniladas en muestras biológicas.

Nuestro laboratorio ha implementado una metodología proteómica para el análisis de la oxidación de proteínas basada en el marcaje de carbonilos con el fluoróforo FTSC, visualización de las proteínas oxidadas en geles electroforéticos 2D e identificación proteica por MS/MS. Este procediendo ha sido aplicado en el ámbito de la Nutrición para estudiar el efecto de la dieta sobre el estrés oxidativo. Los resultados obtenidos en un modelo animal de rata evidencian que el consumo de dietas ricas en lípidos saturados y azúcares origina la acumulación significativa de carbonilos proteicos. Sin embargo, la inclusión de PUFAs n-3 en la dieta resultó efectiva para reducir los niveles fisiológicos de proteínas oxidadas. La metodología desarrollada también ha sido útil en el Área de Ciencia de los Alimentos para determinar la efectividad de compuestos polifenólicos como inhibidores de la oxidación de proteínas en productos pesqueros.