

P14

Caracterización de la haptoglobina porcina mediante una aproximación proteómica

Anna Marco-Ramell¹, Laura Arroyo¹, Katharina Nöbauer², Ebrahim Razzazi-Fazeli², Manfred Gemeiner³, Ingrid Miller³, Anna Bassols¹,

¹ Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Universitat Autònoma de Barcelona; ² VetOMICS Core Facility for Research, University of Veterinary Medicine Vienna, Austria; ³ Department for Biomedical Sciences, University of Veterinary Medicine Vienna, Austria

anna.bassols@uab.cat

La haptoglobina es una de las proteínas de fase aguda más importantes en varias especies, incluyendo el cerdo. La haptoglobina une hemoglobina libre y reduce el daño oxidativo asociado a la hemólisis. Se han observado variaciones en la concentración de haptoglobina y alteraciones en su patrón de modificaciones postraduccionales (MPT) en infección y otras patologías. La glicosilación es la MPT más importante en la haptoglobina humana, sin embargo existe muy poca bibliografía acerca de las MPT de la proteína porcina.

Se separaron las proteínas de suero porcino mediante electroforesis bidimensional en *zoom gels* con rango de pH 4,7 – 5,7. Se identificaron varios spots como haptoglobina mediante MALDI-TOF/TOF y se confirmaron por *western blot* usando un anticuerpo policlonal específico contra la haptoglobina porcina. Además, se realizó una tinción con las lectinas *wheat germ agglutinin* (WGA) y *concanavalin A* (ConA). Para obtener mayor información acerca del patrón de MPT, se purificó haptoglobina porcina mediante cromatografía de afinidad de hemoglobina acoplada a Sepharose 4B. La proteína pura fue digerida con N-glicosidasa, O-glicosidasa y neuraminidasa, separada en geles 1-DE y 2-DE y detectada con el anticuerpo anti-haptoglobina.

Se identificaron cuatro spots correspondientes a la subunidad β y dos spots de la subunidad α de la haptoglobina porcina por espectrometría de masas, y el anticuerpo anti-haptoglobina reconoció los mismos cuatro spots de la cadena β . La tinción con lectinas reveló que la mayoría de los spots corresponden a isoformas glicosiladas. Las digestiones enzimáticas confirmaron que todos los spots correspondientes a la cadena β presentan N-glicosilación y contienen ácido siálico, pero no están O-glicosilados. No se detectó ninguna glicosilación en la cadena α .

Las isoformas proteicas de la cadena β de la haptoglobina porcina están glicosiladas, mientras que ninguna de las isoformas de la cadena α parece estar glicosilada.