

El análisis proteómico mediante 2D-DIGE y MS/MS permite discriminar en un mismo experimento entre ratones silvestres (WT) o deficientes en CD38 (CD38ko) y entre ratones afectados o no por la artritis inducida por colágeno

A. Rosal-Vela¹, J. Postigo², S. García-Rodríguez¹, M. V. Longobardo¹, A. Lario¹, P. Navarro¹, R. Merino³, J. Merino², M. Zubiaur¹, J. Sancho¹

¹ Instituto de Parasitología y Biomedicina "López-Neyra", CSIC, ² Facultad de Medicina, Universidad de Cantabria, ³ Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria, CSIC

arosal@ipb.csic.es

Ratones deficientes en CD38 (CD38ko) desarrollan una artritis inducida por colágeno (AIC) menos severa que los ratones C57BL/6 silvestres (WT). Análisis previos del suero mediante 2D-DIGE demostraron la sobreexpresión de proteínas relacionadas con complemento e inflamación en ratones afectados por la enfermedad mientras que en ratones no afectados algunas proteínas sobreexpresadas pertenecían al grupo de las apolipoproteínas. La proteómica de expresión diferencial de órganos linfoides periféricos como bazo o ganglios linfáticos puede contribuir a determinar con precisión el papel que pueda ejercer CD38 y otras proteínas en la inducción y/o mantenimiento de la artritis.

Búsqueda de proteínas con expresión diferencial mediante análisis 2D-DIGE e identificación por MALDI-TOF/TOF en bazo y ganglios linfáticos de ratones WT y CD38ko a los que se les indujo la AIC; distinguiendo en cada grupo dos variables: afectados o no afectados.

Bazo y ganglios linfáticos fueron disgregados mediante MicroRotofor Lysis kit (Bio-Rad). Los extractos obtenidos tras 2D Clean up kit (Bio-Rad) se resuspendieron en 7M urea, 2M tiourea, 4% Chaps, 20mM Tris, pH-8.5. Tras marcaje DIGE, isoelectroenfoque y 2ª dimensión en sistema Criterion Biorad, tiras de 11cm, pH 3-10. Se determinaron 2 variables: afectación (afectados vs no afectados) y tipo de ratón (WT vs CD38ko) para el análisis *two-way* ANOVA en el software DeCyder 7.0 (GE Healthcare) y módulo EDA 1.0 para el análisis multivariante.

Bazo: sólo para la 2ª variable las 25 proteínas con expresión diferencial entre WT y ko discriminan estos 2 grupos entre sí mediante análisis multivariante. *Ganglios*: 1ª variable, 8 proteínas expresadas diferencialmente que mediante análisis multivariante permiten diferenciar entre los ratones afectados de los no afectados.

El análisis proteómico de dos órganos linfoides como bazo y nódulos linfáticos permite discriminar entre ratones afectados vs no afectados y ratones WT vs CD38ko en el modelo murino de AIC.