

Análisis de la nitración fisiológica de proteínas en órganos de plantas de guisante (*Pisum sativum* L) durante su desarrollo y senescencia

Juan C Begara-Morales², Beatriz Sánchez-Calvo², Mounira Chaki², Raquel Valderrama², Marina Leterrier¹, José M. Palma¹, Juan B. Barroso², Francisco J. Corpas¹

¹Departamento de Bioquímica, Biología Celular y Molecular de Plantas, Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Apartado 419, E-18080, Granada; ²Unidad Asociada de Señalización Molecular y Sistemas Antioxidantes en Plantas, Universidad de Jaén, Campus Las Lagunillas, s/n. 23071 Jaén, España

javier.corpas@eez.csic.es

La nitración de proteínas es una modificación post-traducciona mediada por especies de nitrógeno reactivo (RNS) que ha sido asociada a situaciones de estrés nitro-oxidativo tanto en células animales como vegetales [1,2]. Mediante una aproximación proteómica se analizó la posible nitración fisiológica durante el desarrollo de plantas desde un estadio juvenil hasta su senescencia. Usando plantas de guisante (*Pisum sativum* L) en distintos estadios de desarrollo (entre 8 y 71 días de edad) se analizó el patrón de proteínas nitradas en los principales órganos de la planta (raíces, tallos, hojas, flores y frutos). El análisis por transferencia de western mostraba que cada órgano presentaba un patrón de nitración específico y diferencial a lo largo del desarrollo. De los órganos analizados, las raíces presentaban un patrón de proteínas nitradas con un tamaño molecular aparente entre 31 y 66 kDa. La intensidad de las bandas correspondientes a las proteínas nitradas aumentaba a lo largo del desarrollo de la planta hasta alcanzar la mayor diferencia a los 71 d de desarrollo. Mediante electroforesis bidimensional, se analizó el patrón de proteínas nitradas en raíz de plantas de guisante de 71 d utilizando el anticuerpo frente a la nitrotirosina. De los spots inmunoreactivos se identificaron positivamente 16 proteínas nitradas, la mayoría de ellas con tamaños comprendidos entre 31 y 45 kDa. En base a los resultados obtenidos se propone que el desarrollo de raíces conlleva asociado un proceso de estrés nitrosativo caracterizado por un aumento de las proteínas nitradas en las etapas finales de la senescencia.

[1] Ischiropoulos H y Gow A. Pathophysiological functions of nitric oxide-mediated protein modifications. *Toxicology* 2005;208:299-303.

[2] Corpas et al. Metabolism of reactive nitrogen species in pea plants under abiotic stress conditions *Plant Cell Physiol* 2008;49:1711-22.

Trabajo co-financiado con Fondos FEDER y Ministerio de Ciencia e Innovación (BIO2009-12003-C02-01 and BIO2009-12003-C02-02)