

IDENTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS DE LOS GRÁNULOS DENSOS DE PLAQUETAS HUMANAS MEDIANTE PROTEÓMICA ORGANELAR

L. Hernández-Ruiza, F. Valverde^b, A. Serrano^b y F.A. Ruiza

^aUnidad de Investigación, Hospital Universitario Puerta del Mar, Cádiz y Facultad de Medicina, Universidad de Cádiz. ^bInstituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (CSIC-Universidad de Sevilla), Sevilla.

Los gránulos densos de las plaquetas incluyen moléculas que son secretadas y que contribuyen directamente con la agregación plaquetaria. En este sentido, recientemente hemos descrito que los gránulos densos de las plaquetas humanas acumulan altas concentraciones de unos polímeros conocidos como “polifosfatos inorgánicos” (1), que han sido relacionados con la modulación de la coagulación sanguínea y la fibrinólisis (2). Existe un gran desconocimiento acerca de las proteínas que intervienen en el transporte, síntesis y degradación de los polifosfatos contenidos en los gránulos densos. Para estudiar la composición proteica de éstos orgánulos, estamos analizando fracciones enriquecidas en gránulos densos mediante técnicas de proteómica. El siguiente trabajo presenta los resultados preliminares de estos análisis. El fraccionamiento subcelular de las plaquetas, que incluyó una ultracentrifugación a través de gradientes de densidad, permitió obtener fracciones enriquecidas en gránulos densos. El nivel de enriquecimiento de las fracciones se confirmó mediante el empleo de marcadores enzimáticos. Las proteínas presentes en las fracciones enriquecidas han sido analizadas mediante dos métodos: 1) Electroforesis en dos dimensiones y espectrometría de masas MALDI-TOF y 2) Cromatografía líquida y espectrometría de masas/ masas (LC-MS/MS). En conjunto hemos identificado unas 30 proteínas, algunas de ellas implicadas en procesos de secreción y formación del citoesqueleto. En estos momentos estamos intentando relacionar algunas de las nuevas proteínas identificadas con la función plaquetaria y el metabolismo de los polifosfatos.

(1)Ruiz et al., (2004) J Biol Chem 279:44250-7.

(2)Smith et al., (2006) PNAS 103:903-8.