

2011 Octubre, 2(3): 1-1

ANÁLISIS DE LAS PROTEÍNAS DE LAS GOTAS LIPÍDICAS NUCLEARES

Lagrutta LC¹, Layerenza JP¹, Sisti MS¹, Ves-Losada A^{1,2}

¹INIBIOLP (CCT-La Plata, CONICET, UNLP); ²Dpto. Cs. Biol. - Fac. de Cs. Exactas, UNLP

E-mail: lucialagrutta@hotmail.com

Introducción

El Núcleo celular (N) es la adquisición evolutiva que define a las células eucariotas. En el núcleo, los lípidos se encuentran formando parte de dos pools principales, la doble membrana nuclear compuesta de glicerofosfolípidos, esfingolípidos y colesterol, y dentro del N, la matriz nuclear, enriquecida en Lípidos Neutros (LN), y compuesta principalmente de TAG y CE. En nuestro laboratorio hemos identificado un nuevo dominio nuclear, las Gotas Lipídicas Nucleares (N-LD), donde se concentran los TAG y CE nucleares, y una monocapa lipoproteica, compuesta de fosfolípidos, colesterol y proteínas insertas en la misma. Ambos pools lipídicos corresponden a fuentes alternativas con diferente composición química, propiedades físicas, regulación y funciones.

Objetivos

El objetivo de este trabajo fue hacer un análisis cualitativo y cuantitativo de las proteínas que forman parte de la monocapa de las N-LD, a fin de poder determinar la función de las mismas y en qué eventos celulares se encuentran involucradas. Hipótesis de trabajo: la monocapa de la N-LD está compuesta por proteínas involucradas en el metabolismo lipídico y en los sistemas de transducción de señales nucleares. Ya sea como componentes estructurales, enzimas, factores de transcripción y/o proteínas de transporte.

Materiales y Métodos

Se aislaron núcleos enteros de células de hígado de rata por el método de Blobel y Potter, modificado por Kasper. Se determinó la pureza de los mismos por microscopía electrónica y por proteínas marcadoras. Se aislaron Gotas Lipídicas Citosólicas (C-LD) y N-LD a partir de homogenato y N entero de hígado de rata mediante la técnica de ultracentrifugación en gradiente de sacarosa que se puso a punto en el laboratorio.

Se puso a punto la metodología adecuada para cuantificar las proteínas de las N-LD, dado a que se encuentran en muy baja concentración.

Las proteínas se resolvieron por SDS-PAGE. Los geles se tiñeron con Coomassie Blue y posteriormente con Plata.

Resultados

Se obtuvo el perfil proteico de las Gotas Lipídicas de N de hepatocitos, y se comparó con el perfil de proteínas de N, matriz nuclear (núcleos desprovistos de la doble membrana nuclear), homogenato de hígado de rata y C-LD. Las proteínas de las N-LD se resolvieron en 11 bandas a las que le asignamos la denominación α , siendo las mayoritarias α_3 , α_7 y α_{11} , α_2 y α_4 , en ese orden. En el N se observó un perfil proteico diferente al de las N-LD. Por su parte, las proteínas de las C-LD se resolvieron en 11 bandas a las que le asignamos la denominación A, y las mayoritarias fueron las bandas A5, A8, A6 y A11, A10 en ese orden. Las proteínas de las bandas α_1 , α_3 y α_{11} de las N-LD no están presentes en las gotas citosólicas. Además, las proteínas presentes en las bandas A1, A9 y A11 de las C-LD no están en el Núcleo entero.

Conclusiones

Las proteínas de las N-LD poseen un perfil proteico con diferencias respecto al de las C-LD, y por lo tanto podemos suponer que poseen diferencias en su metabolismo y en su regulación.

Teniendo en cuenta que la banda proteica mayoritaria en las N-LD es minoritaria en el N, y que además no se encuentra en las C-LD, la/s proteína/s presentes en la misma podrían ser potenciales proteínas marcadoras de las N-LD.