Cross-linking/MS em larga escala: mapeamento de interações proteína-proteína em ambiente nativo

Fabio Cesar Gozzo[1,2], Giovanna Lopes de Araújo[1,2], Guilherme Reis de Oliveira[2], Milan Avila Clasen[3], Paulo Costa Carvalho[3]

[1.] Unicamp, Universidade de Campinas, Instituto de Química - Unicamp, CP 6154, CEP 13083-970. Campinas - SP;
[2.] Boldrini, Centro de Pesquisas Boldrini, Rua Dr. Gabriel Porto, 1270 Cidade Universitária Campinas - SP, 13083-210;
[3.] ICC-Fiocruz, Instituto Carlos Chagas - Fiocruz, Rua Professor Algacyr Munhoz Mader, 3775 - Cidade Industrial de Curitiba, Curitiba - PR, 81310-020;

A abordagem de cross-linking/MS (XLMS) já tem sido aplicada para o estudo de estruturas de complexos proteína-proteína (PPI) purificados há bastante tempo. No entanto, a necessidade de ter os componentes da PPI purificados é uma barreira significativa para a aplicação mais geral da técnica. Além disso, o ideal é que a tecnica consiga mapear essas PPI\'s no ambiente mais próximo do ambiente celular. Um grande avanço nessa área foi o desenvolvimento de cross-linkers cliváveis em CID, que cliva o cross-linker de forma preferencial, gerando os dois peptídeos ligados que podem, por sua vez, serem fragmentados para obtenção de fragmentos de sequencia. Essa abordagem permite que a XLMS possa ser aplicado agora em larga escala e mapear PPI\'s em extratos nativos de células.

Para tanto, em colaboração com o grupo do Prof. Paulo Carvalho, um software de identificação de peptídeos com cross-link em larga escala, o Scout. O programa Scout é hoje o programa mais rápido, de maior sensibilidade e maior seletividade para XLMS. Experimentos de XLMS em extratos nativos de E. coli foram realizados em um grande número de PPI\'s pode ser confiavelmente identifcadas. Essa abordagem pode ser aplicada a qualquer tipo de célula e a comparação quantitativa também pode ser feita via LFQ ou qualquer método de marcação isotópica ou isóbara.

Finalmente, foi desenvolvido também o programa Flashlight, um software voltado para a visualização das PPI\'s e interpretação biológica dessas PPI\'s. Através de interação online com os servidores Uniprot e STRING DB, o programa Flashlight é capaz de identificar PPI\'s inéditas, mostra a localização celular dos componentes da PPI, além de outros dados biológicos como vias e Gene Ontology. Todos esses daos podem ser colocados de forma visual com total controle do usuáriooo sobre a aparência das figuras. Finalmente, o Flashlight ainda relata várias estatísticas para análise da qualidade e quantidade dos dados de XLMS

Agradecimentos: IQ - Unicamp, Centro de Pesquisas Boldrini, Fapesp e CNPq