



Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach

Lekárska fakulta  
Ústav lekárskej a klinickej biofyziky



# Analýza proteómu nádorovej línie MCF-7 pomocou MALDI-TOF/TOF

Marián Petrovič, Soňa Tkáčiková, Ivan Talian, Ján Sabo



Proteomická analýza v klinickej biochémií



Zmena fyziologického stavu v organizme  
(zmene obsahu proteínov)

- sledovanie priebehu chorobného stavu
- stanovenie diagnózy v skorých štádiach
- určenie príčiny vzniku patologického stavu



hmotnostná  
spektrometria

- vysoká citlivosť, rozlíšenie, reprodukovateľnosť
- možnosť prepojenia so separačnými technikami

ATCC  
(american type culture collection)



referenčná laboratorna línia  
karcinómu prsníka MCF7



bunková línia MCF7

lýza



supernatant

pelet

jadrové protény



supernatant

pelet

cytoplazmatické proteíny

mitochondrie

bunková línia MCF7

lýza

lyzáat + fenol/chloroform



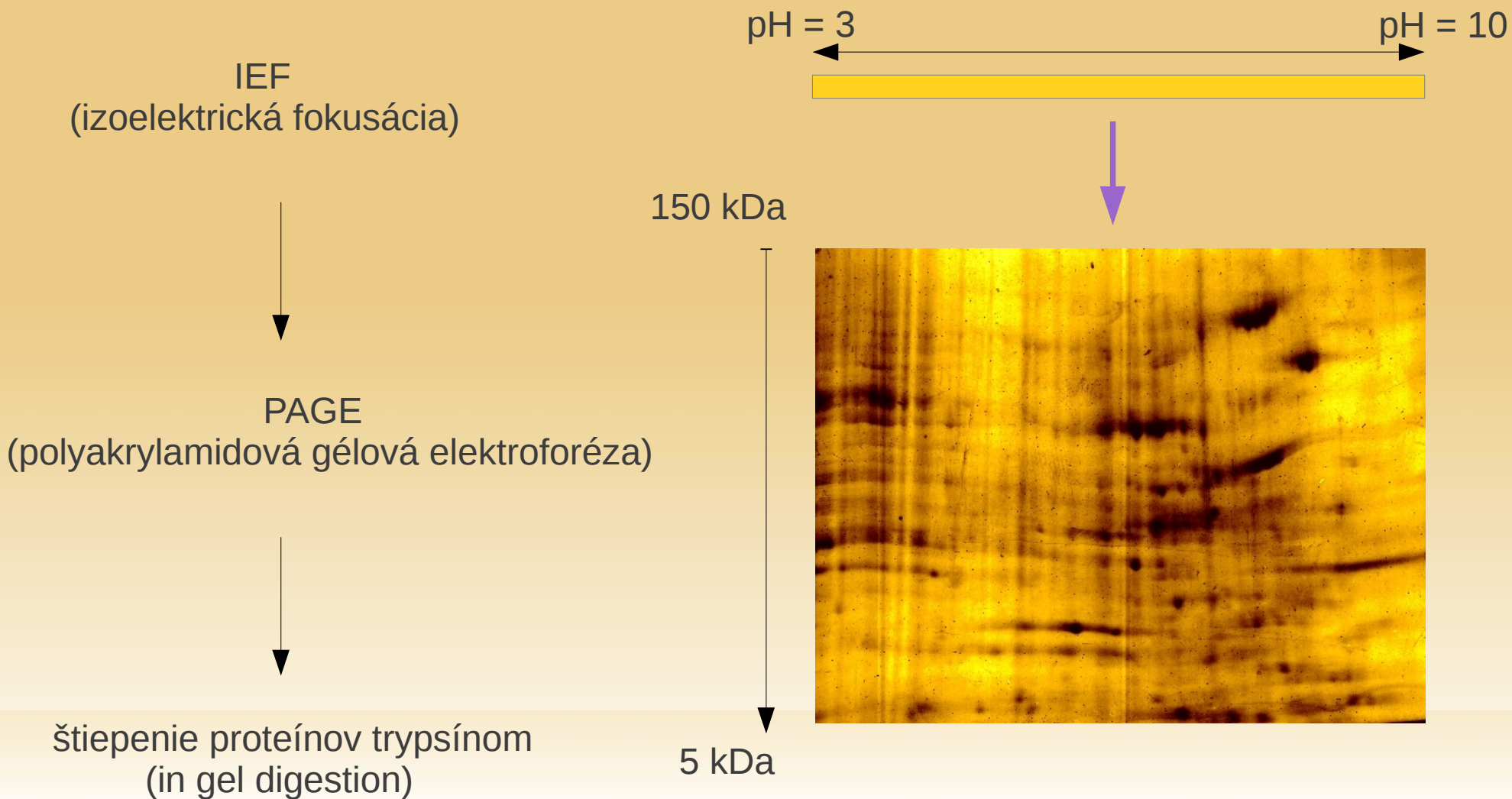
RNA

+ etanol



proteóm

DNA





2D-SCX – RP-HPLC (nano HPLC system Ultimate 3000 ,Dionex)

1. stupeň separácie: SCX, ionovovymenná chromatografia

2. stupeň separácie: RP chromatografia (C18)

Polysulfoethyl Asp 1 mm i.d. × 150 mm,  
Dionex

Acclaim PepMap100

SCX kolona

Trap RP C18

nástrek

RP C18

spoter

Acclaim PepMap 100 C18 column  
75 µm i.d. × 150 mm, Dionex

pumpa

ztrypsínovaná vzorka proteinov (in solution digestion)

acetonitril 95/5 (v/v) obsahujúci 0.025% TFA, 10 µL /min



UltrafleXtreme MALDI TOF/TOF (Bruker Daltonik)

merací mód: refletron, rozsah od 700 – 350 Da

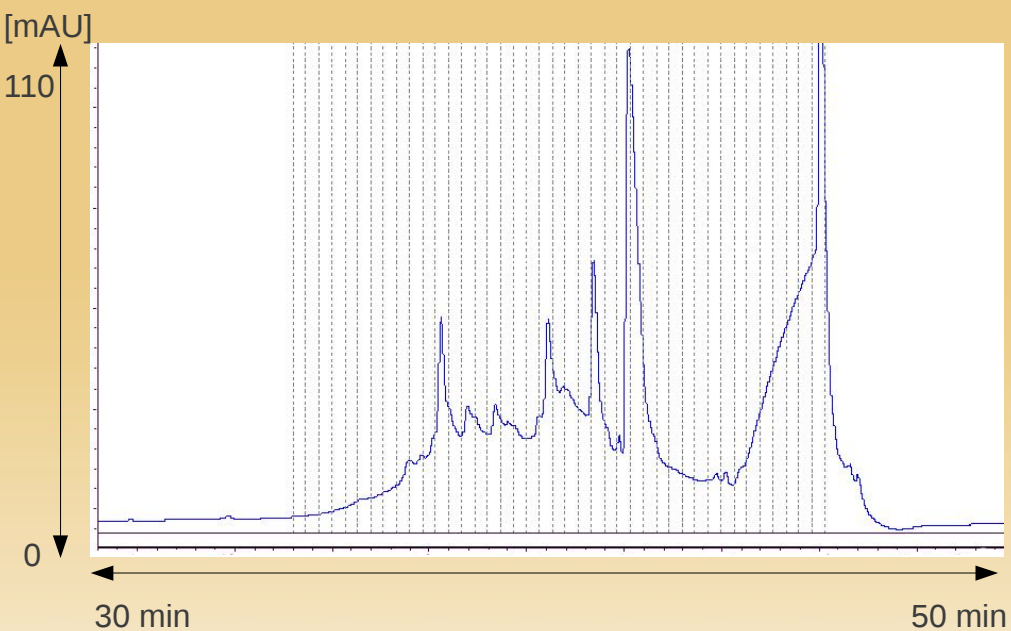
kyselina  $\alpha$ -kyano-4-hydroxyškoricová

Mascot algoritmus (Matrix Science Ltd.)

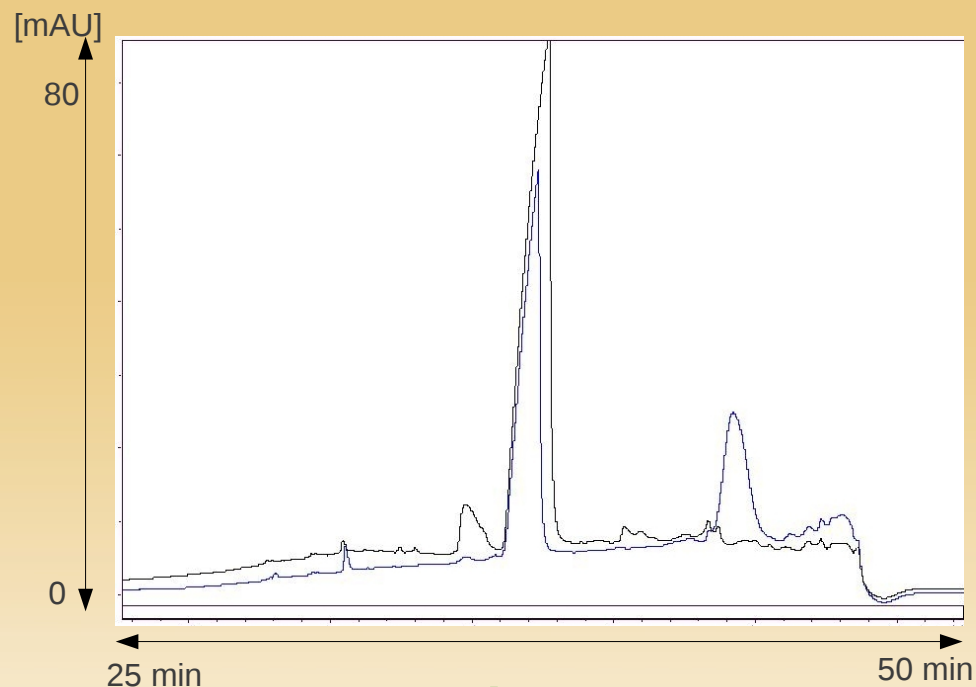
NCBI databáza



Chromatogram prohibitínu



Chromatogram vimentinu, tubulinu

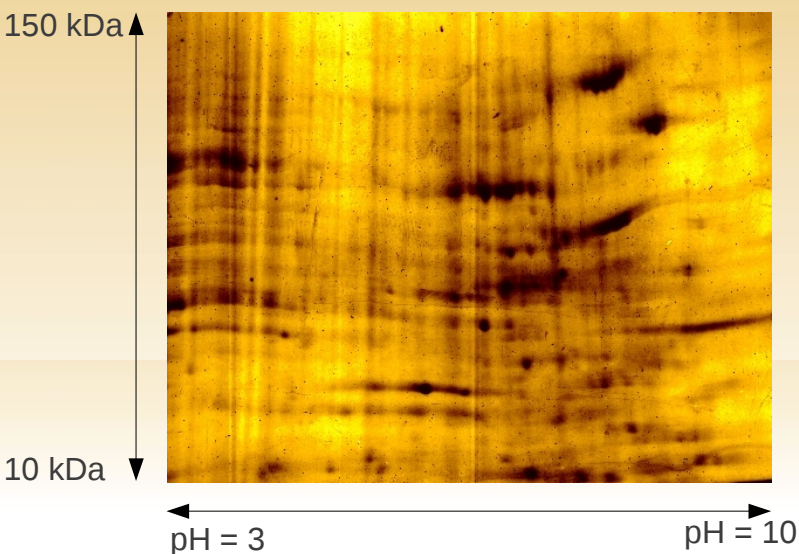
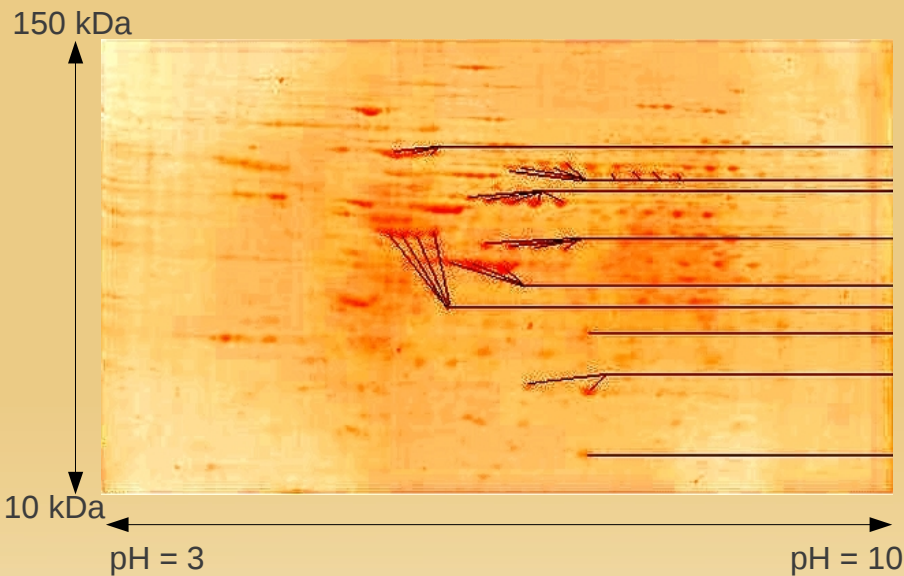






# Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach

Lekárska fakulta  
Ústav lekárskej a klinickej biofyziky



Protein name	Database number NCBI	pI	Mr (kDa)	Mascot score	Match pepti-des	Sequence coverage %
calreticulin precursor variant	gi 62897681	4.1	46.9	101	11	27.6
protein disulfid-isomerase precursor	gi 20070125	4.6	57.1	74	11	18.8
tubulin, beta	gi 57209813	4.6	47.7	88	16	39.2
unnamed protein product	gi 193787214	4.8	46.9	108	14	39.8
mitochondrial ATP synthase, H+ transporting F1 complex beta subunit	gi 89574029	4.8	48.1	225	25	59.8
vimentin	gi 62414289	4.9	53.6	173	30	47.6
VIM	gi 47115317	4.9	53.5	173	30	47.6
78 kDa glucose-regulated protein precursor	gi 254540166	4.9	72.4	166	25	44.6
HSP90AA1 protein	gi 83318444	5	68.3	71.3	15	25.3
heat shock 70 kDa protein 8 isoform 1 variant	gi 62897129	5.1	70.9	84.7	14	28.8
beta actin	gi 4501885	5.2	41.7	105	9	23.5
heat shock cognate 71 kDa protein isoform 1	gi 5729877	5.2	70.9	83.8	14	28.8
HNRPF protein	gi 16876910	5.3	45.7	69.6	9	18.1
heterogeneous nuclear ribonucleoprotein F	gi 4826760	5.3	46	109	16	32.8
ACTB protein	gi 15277503	5.5	40.2	118	11	30.8
actin, beta	gi 14250401	5.5	41	106	9	23.9
prohibitin	gi 4505773	5.5	29.8	133	12	46.7
60 kDa heat shock protein, mitochondrial	gi 31542947	5.6	61	62.5	14	31.2
Actin alpha	gi 30908859	5.7	28.4	66	6	23.2
HNRPH1	gi 48145673	5.8	49.4	121	19	39.4
Chain A, Crystal Structure Of Human Enolase 1	gi 203282367	6.9	47.3	60	10	27.3





Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach

Lekárska fakulta  
Ústav lekárskej a klinickej biofyziky



**Ďakujem za pozornosť**