

Fenotipado Proteómico de Líneas Celulares de Cáncer Humano

I.Masana¹, B.Bhat², C. Miller³, J.Meza³, S.Kumar⁴, X.Xu⁴, V.C.Chumbalkar⁵

^{1,2,3} Agilent Technologies: ¹Barcelona, ²Wilmington, DE, ³Santa Clara, CA; ⁴University of Pennsylvania, ⁵University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston

isidre_masana@agilent.com

Muy a menudo, el análisis proteómico global se realiza utilizando un tipo de línea celular. Sin embargo, la expresión de proteínas pueden diferir considerablemente de una línea celular a otra, incluso dentro de un mismo organismo. En este estudio, se investigaron 22 tipos diferentes de líneas celulares de cáncer humano mediante análisis 1D-LC-MS/MS utilizando nano-LC's acoplados a 2 espectrómetros de masas Q-TOF.

Muestras de proteínas de diversos tipos de cáncer y diferentes órganos humanos (melanoma, cáncer de mama, glioblastoma, cáncer de pulmón, osteosarcoma, cáncer de cuello uterino) se tripsinizaron antes de su análisis por LC-MS. Las muestras fueron analizadas por triplicado utilizando 2 nano LC-MS/MS: HPLC-Chip/QTOF 6520 y 6550. Los datos fueron analizados y semi-cuantificados mediante el motor de búsqueda Spectrum Mill.

Para abordar el fenotipado proteómico de los diferentes tipos de líneas celulares de cáncer humano, este estudio, demostró la viabilidad de un enfoque 1D-LC-MS/MS sin etiquetado. Cerca de 4500 proteínas humanas únicas (+40.000 péptidos distintos), fueron identificadas en el análisis preliminar de 22 diferentes líneas celulares de cáncer humano. La comparación del proteoma de las células de cáncer de melanoma, con las de mama, mostró un 30% de proteínas únicas para cada tipo de célula, y alrededor de un 68% de proteínas expresadas diferencialmente. En general, alrededor del 75% del total de proteínas se expresaron diferencialmente entre los distintos tipos de líneas celulares de cáncer.

La muy importante mejora en sensibilidad proporcionada por la tecnología Agilent i-Funnel acoplada a QTOF (modelo 6550):

- Capilar con 6 conductos (para incrementar x10 la cantidad de iones captados de la fuente).
- Acoplado a un sistema de doble embudo de iones desalineado (para eliminar la elevada carga de gas y focalizar los iones).

Permitió doblar el número de distintas proteínas y péptidos identificados.