

P20

Identificación y cuantificación label-free de proteínas de suero humano de media y baja abundancia con LC-LTQ-Orbitrap MS/MS tras inmunodepleción y fraccionamiento SCX

Ignacio Ortea¹, Bernd Roschitzki², Antonio González¹

¹ Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela; ² Functional Genomics Center Zurich, Zurich

iortea@gmail.com

La sangre es una fuente muy prometedora de biomarcadores proteicos, ya que debido al contacto con todos los tejidos contiene mucha información sobre el estado patofisiológico global,¹ y puede obtenerse de forma mínimamente invasiva. Sin embargo, el descubrimiento de biomarcadores en plasma y suero está limitado por la gran complejidad del proteoma sanguíneo y el amplio rango dinámico de las concentraciones de proteínas, que abarca 11 órdenes de magnitud,² con las proteínas más abundantes representando el 90% del total. Los biomarcadores, al encontrarse en bajas concentraciones (~ng/mL)², se enmascaran por las proteínas de gran abundancia, tanto en 2-DE como en MS. Por todo ello, es necesario (i) eliminar las proteínas de mayor abundancia; (ii) un método de fraccionamiento intensivo de las proteínas;³ y (iii) utilizar equipos de MS con gran rapidez de escaneo y sensibilidad.

En este estudio, las proteínas del suero fueron prefraccionadas mediante inmunodepleción para eliminar las proteínas más abundantes, y tras digestión trípica, los péptidos fueron fraccionados por cromatografías de intercambio catiónico fuerte (SCX) y fase reversa y analizados por MS LTQ Orbitrap. Los resultados indican que la estrategia utilizada es eficaz para el estudio del proteoma del suero humano, tanto en cuanto al número de proteínas identificadas como en la identificación de proteínas de abundancia media y baja, por lo que se puede utilizar en la búsqueda de biomarcadores. Además, mediante cuantificación label-free^{4,5} se obtuvo la abundancia relativa de las proteínas identificadas.

[1] Zhang, H, *et al.* Mol. Cell. Proteomics 2007;6:64-71.

[2] Surinova, S, *et al.* J. Proteome Res. 2011;10:5-16.

[3] Liu, T, *et al.* J. Proteome Res. 2005;4:2070-80.

[4] Asara, JM, *et al.* Proteomics 2008;8:994-9.

[5] Liu, H, *et al.* Anal. Chem. 2004;76:4193-201.

Trabajo financiado por el proyecto PRIME-XS (grant agreement number 262067), dentro del 7º Programa Marco de la Unión Europea.