

Identificación de marcadores de superficie celular en células iniciadoras del cáncer procedentes de pacientes con glioma

Joan J. Bech-Serra¹, Marta Monge¹, Andrea Sáez², Joan Seoane², Francesc Canals¹

¹Laboratori de Proteòmica, ²Laboratori d' Expressió Gènica i Càncer, Vall d'Hebron Institute of Oncology (VHIO), Barcelona

jjbech@vhio.net

En los tumores existe una subpoblación de células denominadas “células iniciadoras del cáncer” que poseen características similares a las células madre. Estas células son responsables de la formación, propagación y reincidencia del tumor así como de la resistencia de éste a los tratamientos antitumorales convencionales. Debido a su papel relevante, esta subpoblación celular se ha intentado aislar en distintos tumores con el objetivo de conocer mejor su papel en el tumor y poder así establecer nuevas líneas terapéuticas. Para ello, se han utilizado varios marcadores de superficie celular como CD133 y CD44, los cuales permiten una rápida purificación de poblaciones celulares mediante citometría de flujo. En el caso del glioma estos marcadores no son suficientes ya que existen poblaciones de células iniciadoras del cáncer que son negativas para CD133. Por lo tanto, es crucial la identificación de marcadores fiables para poder trabajar con estas células.

En este trabajo hemos implementado un método de aislamiento de proteínas de superficie celular y posterior análisis mediante espectrometría de masas utilizando células iniciadoras del cáncer procedentes de pacientes con glioma, un tipo de tumor muy agresivo. Para aislar las proteínas de superficie celular hemos aplicado una tecnología consistente en obtener una fracción enriquecida de membranas celulares que es sometida a una digestión trípica. Posteriormente, se realiza un marcaje covalente de las estructuras glucídicas de los glicopéptidos resultantes de la digestión mediante un sistema de biotina unida a un grupo hidrazida. Finalmente, los glicopéptidos unidos a biotina son purificados mediante cromatografía de afinidad en una columna de estreptavidina-agarosa y sometidos a digestión con PNGasa F para proceder a su elución. Los péptidos obtenidos se analizan mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas.