



XXXVI. Dny lékařské biofyziky
29.-31. května 2013
Lázně Bělohrad

DTU Technical
University of
Denmark



PROTEOMICKÝ PROFIL KMEŇOVÝCH BUNIEK IZOLOVANÝCH Z CHORIÓNOVEJ MEMBRÁNY

Chmelová M., Jacobsen S., Bober P., Bačenková D., Kováčová V., Urdzík P.,
Rosocha J., Blicher A., Sabo J.
martina.chmelova@student.upjs.sk



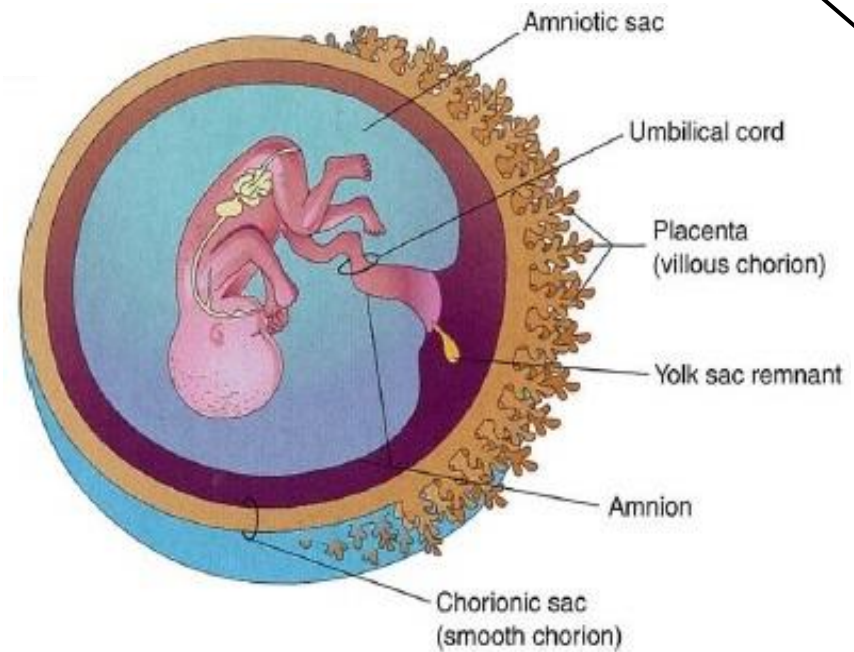
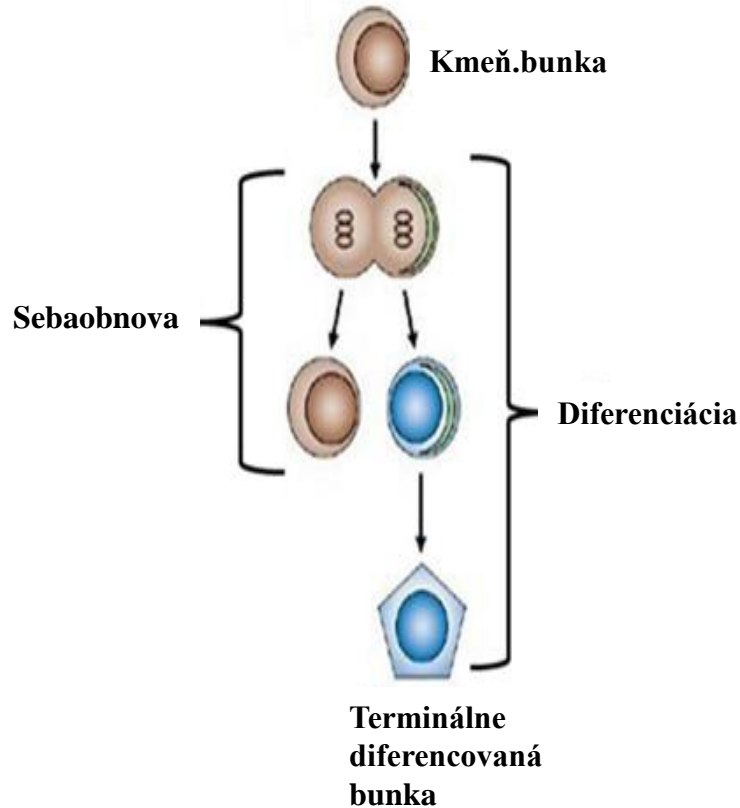


Ciele práce

- ❖ proteomický profil mezenchymálních kmeňových buniek (MSC)
- ❖ identifikácia zmien v proteóme MSC v priebehu diferenciácie



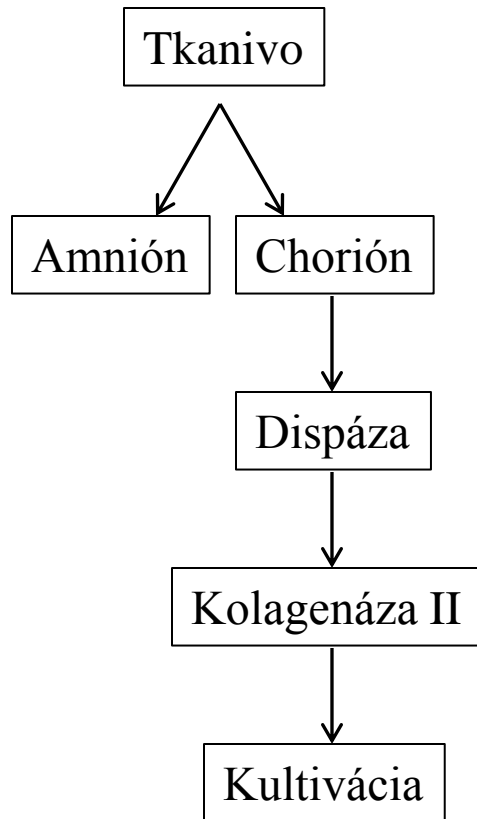
XXXVI. Dny lékařské biofyziky
29.-31. května 2013
Lázně Bělohrad



Obr.: Moore KL, Persaud TVN. Before we are born: essentials of embryology and birth defects. Philadelphia: Saunders; 2003. pp 107.



Experiment



Placenta – sekcia, 38±1 týždeň, n=5

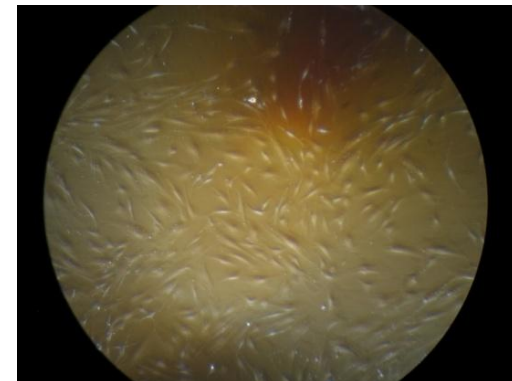
Manuálna separácia tkanív

Enzymatická digestia – Dispáza 2,4 U/ml

Kolagenáza II

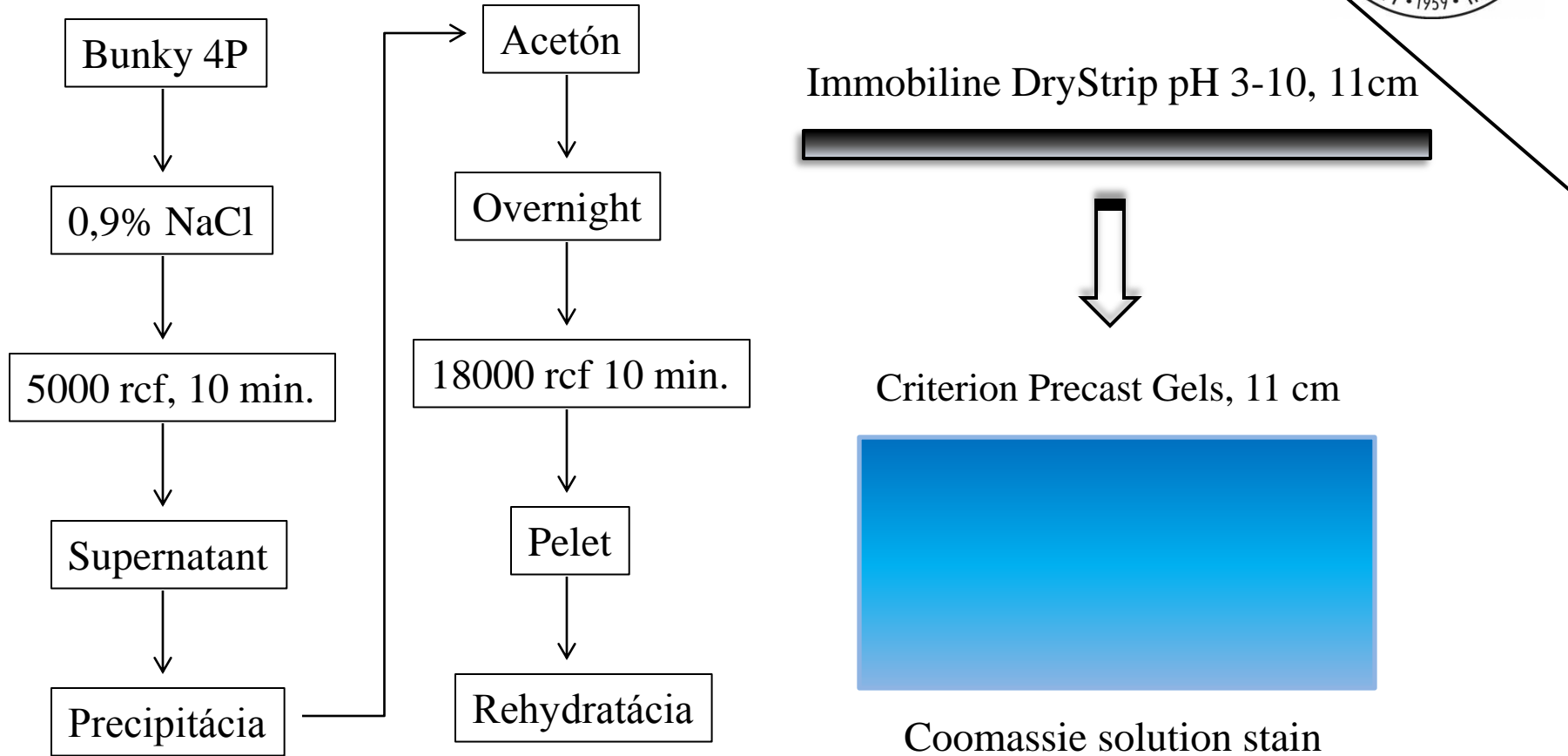
Kultivácia: 37°C, 5% CO₂

Médium: alphaMEM/FBS/ATB





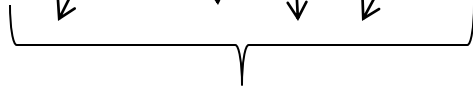
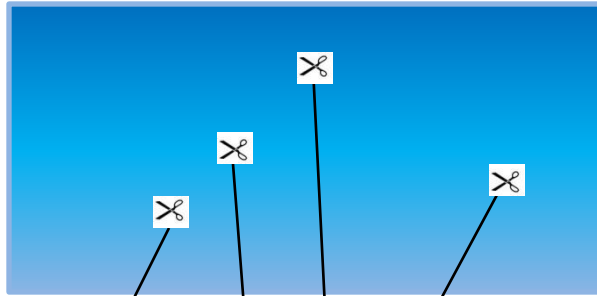
XXXVI. Dny lékařské biofyziky
29.-31. května 2013
Lázně Bělohrad



(n = 3)



XXXVI. Dny lékařské biofyziky
29.-31. května 2013
Lázně Bělohrad



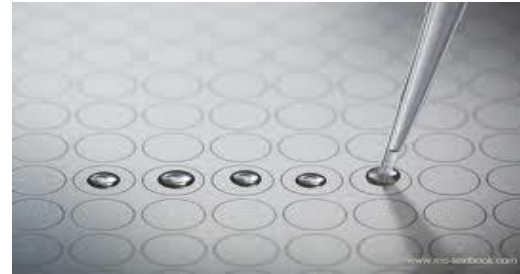
Digestia



Trypsín (Promega)
25 mM NH_4HCO_3



+ Matrica
CHCA . 90% ACN . 0,1% TFA



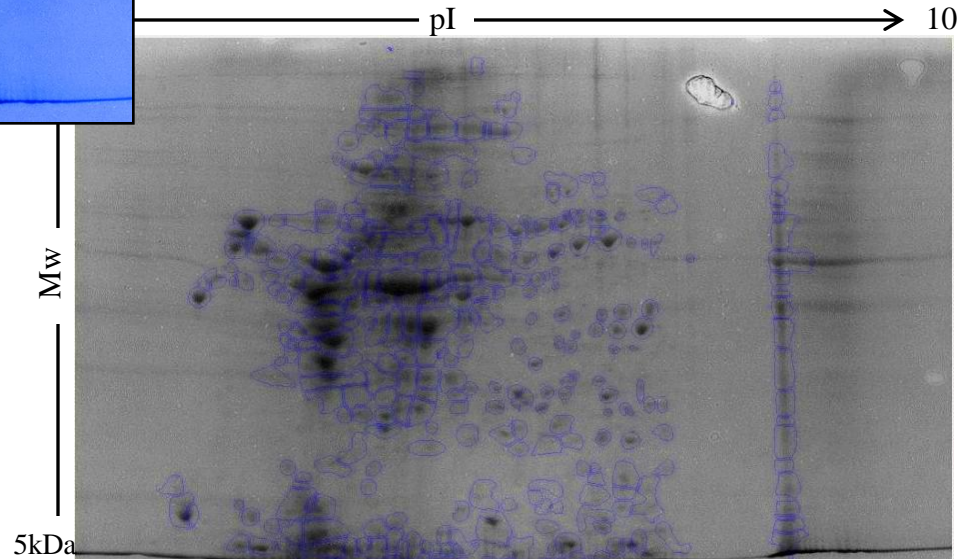
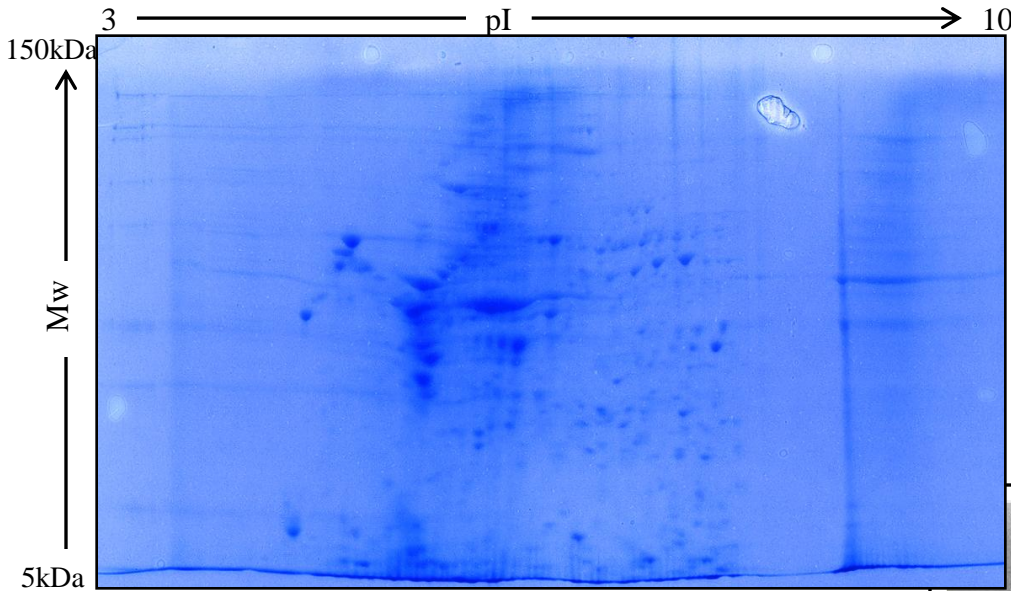
AnchorChip



Ultraflex MALDI TOF/TOF



XXXVI. Dny lékařské biofyziky
29.-31. května 2013
Lázně Bělohrad



- Progenesis SameSpot
- 327 spotov
- >130 spotov

(n = 3)



XXXVI. Dny lékařské biofyziky 29.-31. května 2013 Lázně Bělohrad



	Endoplasmia	Název	pI	Mw	Skóre
isoform a	Eukaryotic initiation	14-3-3 protein zeta/delta	4,6	27,9	108
Nucleoside diphosph	Fascin 1 K41a Mutat	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2 isoform 1	7,66	27,1	89
Parvalbumin alp	Flotillin isoform 2	60 kDa heat shock protein, mitochondrial	5,7	61,2	184
Peptidyl-prolyl	Galectin-1, Chain B	60 kDa heat shock protein, mitochondrial, variant 1	5,8	61	84
Peroxiredoxin	Gamma-actin	78 kDa glucose-regulated protein precursor	5,07	72,4	203
Peroxiredoxin	Gamma-actin	Aconitate hydratase, mitochondrial	7,4	86	174
Peroxiredoxin 4 Chain A	Geminin	Glyceraldhyde-3-phos dehydrogenase	7,4	86	174
Peroxiredoxin-1	Glyceraldhyde-3-phos dehydrogenase	ACTB protein, partial	5,5	40,53	166
Peroxiredoxin-2	Actin cytoplasmic	Actin cytoplasmic	5,3	42,0	204
Peroxiredoxin-2 A	Guanine nucleotide b G(q) submit alpha	Actin, cytoplasmic 1,2	5,3	42	218
Peroxiredoxin-6	Heat shock cognate 71	AKR7A2 protein, partial	6,7	39,89	31
Peroxisome ass	Heat shock protein be	Aldehyde dehydrogenase X, mitochondrial	6,4	57,6	87
Phosphoglycerat	Heat shock protein F	Alpha enolase isoform 1	7,01	47,5	185
Phosphoglycerat	Hemoglobin subunit	Ankyrin repeat and kinase domain containing 1, isoform CRA_b	6,4	84,6	41
Profilin-1	Heterogeneous nuclear A2/B1, isoform CRA_a	Annexin A1	6,57	38,9	156
Protein disulfid	Heterogeneous nuclear A2/B1, isoform CRA_a	Annexin A10 protein	5,20	37,72	52
Protein disulfid	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein	Annexin A2, isoform 1	7,57	38,8	39
Protein disulfid member 3	Hsc70BAG1, Chain A	Annexin A2, isoform CRA_c	5,93	32,6	71
Protein disulfid member 3, isofo	Structure, in comple	Annexin A5	4,94	35,9	192
Protein disulfid member 3, isofo	Human Glutamate D Apo Form, Chain A	ATP Synthase subunit alpha, mitochondrial	9,6	59,8	203
Protein disulfid member 3, isofo	Human Liver Gapd	ATP synthase subunit beta, mitochondrial	5,26	56,5	184
Protein disulfid	Human Mannose B	Beta actin	5,37	42	90
Protein disulfid	Chain A	Beta defensin 107	11,1	8,1	47
Protein DJ-1, Do	Chain A, Human Cy	Beta tropomyosin	4,7	29,98	112
Protein Disulfid	Complexed With An	BiP protein, partial	5,23	71,0	234
Protein Disulfid	Chain A, TapasinERP	C19orf10 protein, partial - Interleukin 25	6,23	18,4	60
Protein Disulfid	Chain A, Up1, The Ty	Caldesmon 1 protein, partial	5,36	36,6	73
Protein Disulfid	Motif Domain Of H	Caldesmon	6,08	62	48
Protein Disulfid	Chloride intracellula	Calmodulin 3	4,33	16,6	60
Pyruvate Kina	Keratin type I cytos	Calreticulin precursor	4,29	48,3	166
Pyruvate kinase	Keratin type II cytos	Calumenin isoform a precursor	4,47	37	121
Radixin	L-lactate dehydroge	Calumenin isoform c precursor	4,47	38,1	157
Retinal dehydro	Manganese-containing di	Cathepsin B	5,44	17,4	98
rho GDP-dissoci	Mitogen-activated pro	Cathepsin B, Chain A, In Complex With Stefin A	5,23	28,6	74
Serpin peptidas	Heat shock 60kD pro	Cathepsin B, chain B	5,4	17,4	68
Serpin peptidas (heat shock pro	Skeletal muscle 1	Cathepsin D preproprotein	6,1	45	66
Tryptophan	Stress-70 protein	Coactosin-like protein, chain A	5,55	15,9	70
Tubulin bet	Stress-induced-p	Cofilin 1 (non-muscle), isoform CRA_c	8,54	15,87	51
Ubiquitin ca	Succinyl-CoA:3-	Cofilin-1	8,22	18,7	69
Ubiquitin, C	Netrin-5	CRK adapter molecule crk	5,38	33,8	46
Uncharacter	Neutral alpha-glucos	Cytochrome b-C1 complex subunit, Rieste mitochondrial	9,4	29,9	60
Vimentin	Nuclear chloride intra	DNA repair protein XRCC3	10	38,3	47
Vimentin var	Prolyl 4-hydroxy	Elongation factor 1-alpha 1	9,7	50,5	42
Vinculin isof	Nucleophosmin - nucl	Endoplasmic reticulum resident protein, 29 isoform 1 precursor	6,77	29	82
Transgelin varia	Nucleoside diphosph				

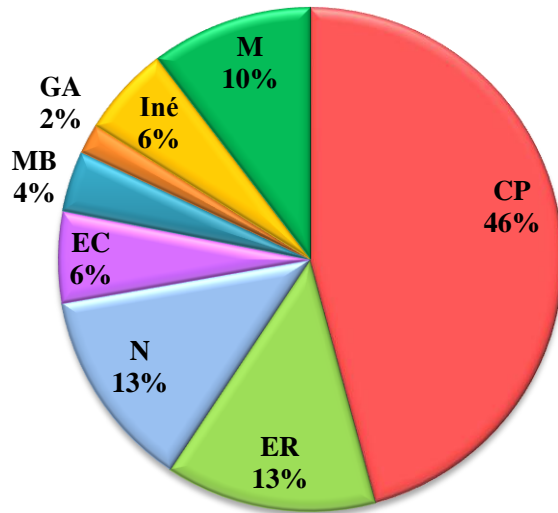
Identifikovaných
130 proteinů



XXXVI. Dny lékařské biofyziky
29.-31. května 2013
Lázně Bělohrad

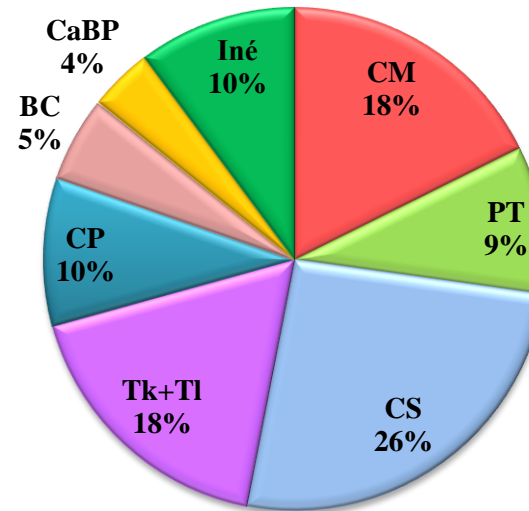


Lokalizácia



CP- cytoplazma, M – mitochondrie, ER – endoplazmatické retikulum, EC – proteíny v extracelulárnom priestore
MB – cytoplazmatická/jadrová membrána, N – jadro,
GA – Golgiho aparát

Funkcia



CM – funkcie spojené s bunkovým metabolizmom, PT – skladanie proteínov a stresová odpoveď, CS – cytoskelet, udržanie a modulácia štruktúry bunky, Tk+Tl – genetické procesy, transkripcia, translácia, CP – funkcie spojené s ochranou bunky, detoxikáciou a udržaním homeostázy, BC – funkcie spojené s reguláciou bunkového cyklu a starnutím, CaBP – proteíny viažuce ióny vápnika.



XXXVI. Dny lékařské biofyziky
29.-31. května 2013
Lázně Bělohrad



- Identifikovali sme 130 proteínov
 - 46% - cytoplazmatické proteíny
 - 13% - jadrové proteíny
- 6% identifikovaných proteínov predstavujú „tkanivovo-špecifické“ proteíny placenty
- Získali sme čiastkové výsledky, ktoré sú nevyhnutné pre splnenie ďalšieho cieľa našej práce – identifikácia zmien pri diferenciácii

Práca bola vypracovaná s podporou Nadácie SPP štipendijný program Hlavička 2012/2013, grantu VEGA 1/11/09/11(50 %) a projektu štrukturálneho fondu EU ITMS: 26220220143 (50 %)



XXXVI. Dny lékařské biofyziky
29.-31. května 2013
Lázně Bělohrad



Ďakujem za pozornosť