

BOOK OF ABSTRACTS PREVEDA INTERACTIVE CONFERENCE OF YOUNG SCIENTISTS

Search ...

Home

Editorial

Committees

Partners

Journal

Abstracts

Author index

Statistics

Interaktívna Konferencia Mladých Vedcov / Interactive Conference of Young Scientists

www.preveda.sk/conference

Editori:
Ing. Miroslav Ferko, PhD., Centrum experimentálnej medicíny, Ústav pre výskum srdca, Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 841 04, Bratislava;
Ing. Pavol Farkaš, PhD., Chemický ústav, Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 845 38, Bratislava

© 2021 Občianske združenie Preveda

14 years

1933 abstracts

3251 authors

12:05
17.6.2021

Webstránka konferencie a online zborníka:

<https://www.preveda.sk/conference/>

<https://abstracts.preveda.sk/>

Citácia:

Siváková, B., Lukáčová, V., Jurčík, J., Selický, T., Čipáková, I., Čipák, L., Baráth, P.: Porovnanie frakcionačných techník pri analýze fosfoproteómu kvasinky *Schizosaccharomyces pombe*. Interaktívna Konferencia Mladých Vedcov 2021. Občianske združenie Preveda, 2021, Abstrakt č.: 2191, ISBN 978-80-972360-7-6

Porovnanie frakcionačných techník pri analýze fosfoproteómu kvasinky *Schizosaccharomyces pombe*

Authors: Barbara Siváková ¹, Veronika Lukáčová ², Ján Jurčík ³, Tomáš Selický ³, Ingrid Čipáková ³, Ľuboš Čipák ³, Peter Baráth ^{1,2}

¹ Chemický ústav, SAV, Bratislava, SK; ² Medirex Group Academy, n.o., Trnava, SK;

³ Biomedicínske centrum, SAV, Bratislava, SK

Year: 2021

Section: „Omics“

Abstract No.: 2191

ISBN: ISBN 978-80-972360-7-6

Fosforylácia je postranlačná modifikácia modulujúca funkciu proteínu, ktorá je nevyhnutná pre bunkovú signalizáciu, proliferáciu, diferenciáciu a rast. Ide o dynamický proces, ktorého deregulácia spôsobuje množstvo chorobných procesov, vrátane rakoviny (1). Technológie založené na kvapalinovej chromatografii, ktorá je spojená s hmotnostnou spektrometriou (MS) predstavujú efektívny nástroj na identifikáciu proteínov a ich postranlačných modifikácií. Pretože fosforylované peptidy sa nachádzajú v komplexných vzorkách v oveľa menšom zastúpení, v porovnaní s ich nemodifikovanými formami, je nutné, aby pracovný postup obsahoval krok zabezpečujúci obohatenie fosforylovaných peptidov (2). Nevyhnutnou prípravou vzoriek je aj frakcionácia, ktorá významne znižuje komplexnosť vzoriek a tým zvyšuje množstvo identifikovaných fosforylačných miest.

Nedávno optimalizovaný pracovný postup z nášho laboratória zahŕňa extrakciu proteínov, enzymatické štiepenie proteínov na peptidy a extrakciu na reverznej fáze. Nasledujú kroky typické pre prípravu fosfoproteomických vzoriek, konkrétne obohatenie fosfopeptidov pomocou afinitnej chromatografie s imobilizovaným kovom (IMAC) a frakcionácia pomocou silnej anión-výmennej (SAX) a poréznej grafitovej (PGC) chromatografie. Na MS analýzu sa používa kvapalinová chromatografia nanoflow Ultimate HPLC spojená s hmotnostným spektrometrom Orbitrap. Na spracovanie a bioinformatickú analýzu MS dát sa využívajú softvérové nástroje MaxQuant a Perseus (3).

Takýmto spôsobom boli analyzované dve skupiny vzoriek, ktoré sa líšili použitou frakcionačnou technikou, PGC resp. SAX. Rozdiely medzi vzorkami boli skúmané na úrovni proteínových skupín, ako aj fosforylačných miest. Z našich zistení vyplýva, že pomocou rôznych techník sú vzorky obohacované o rozličné fosfopeptidy. Preto kombináciou rôznych frakcionačných metód je možné dosiahnuť významné zvýšenie množstva identifikovaných fosforylačných miest. Použitím vyššie uvedeného spôsobu prípravy vzoriek a následnej analýzy pomocou hmotnostnej spektrometrie sme boli schopní identifikovať 1274 nových, doposiaľ neanotovaných fosforylačných miest, ktoré môžu byť prínosné pre pochopenie regulácie bunkových procesov.

Táto práca vznikla vďaka podpore Agentúry na podporu výskumu a vývoja, v rámci projektu č. APVV-16-0120, VEGA grantov 2/0026/18 a 2/0039/19, a Slovenskej akadémie vied, v rámci programu pre doktorandov č. APP0007. Na podpore projektu sa ďalej podieľal Operačný program Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Centrum pre biomedicínsky výskum – BIOMEDIRES – II. etapa, kód ITMS: 313011W428, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

(1) Zhang, J., Yang, P.L., and Gray, N.S. (2009). Targeting cancer with small molecule kinase inhibitors. *Nat. Rev. Cancer* 9, 28–39.

(2) Ruprecht, B.; Koch, H.; Medard, G.; Mundt, M.; Kuster, B.; Lemeer, S. Comprehensive and reproducible phosphopeptide enrichment using iron immobilized metal ion affinity chromatography (Fe-IMAC) columns. *Mol. Cell. Prot.* 2015, 14, 205–215.

(3) Sivakova, B., Jurcik, J., Lukacova, V., Selicky, T., Cipakova, I., Barath, P., & Cipak, L. (2021). Label-Free Quantitative Phosphoproteomics of the Fission Yeast *Schizosaccharomyces pombe* Using Strong Anion Exchange- and Porous Graphitic Carbon-Based Fractionation Strategies. *International journal of molecular sciences*, 22(4), 1747.