

Proteomforskning på Cholesteatomvæv

Anvendte metoder på afd.H, Aarhus
Universitetshospital, Århus Sygehus

Proteomforskning

- Lang vej fra DNA til protein
- Effekt-enheden
- Komplekst

Proteom forskning

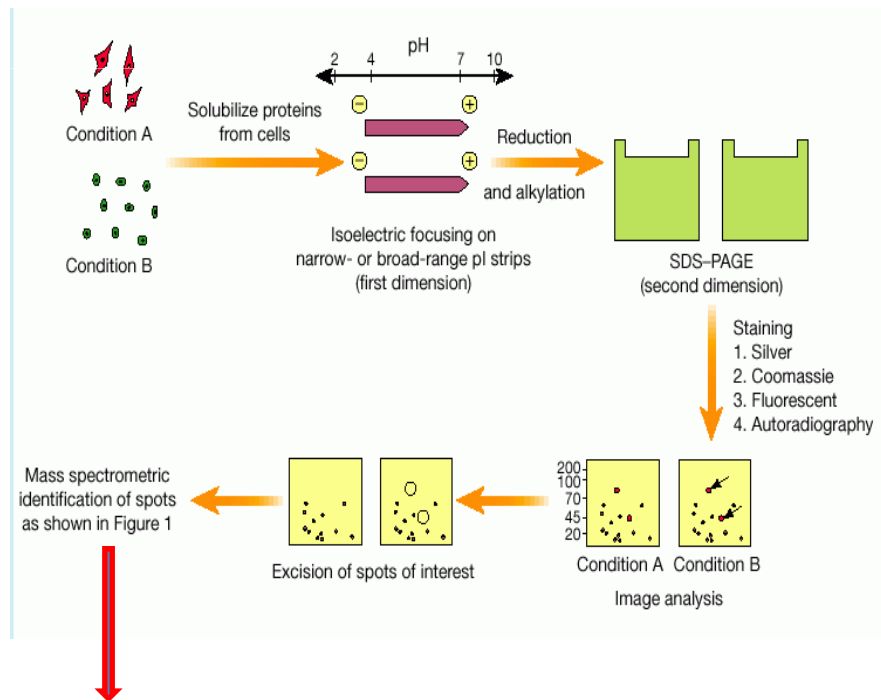
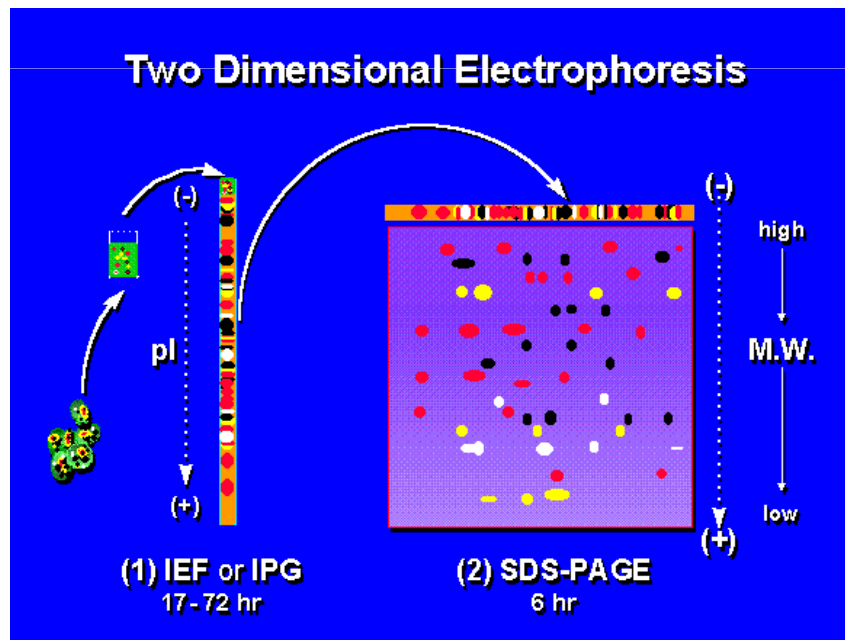
- Stor udvikling indenfor de seneste 20 år
- 2 dimensional gel elektroforese (2DE)
- Massespektrometri (MS)

Proteinforskning

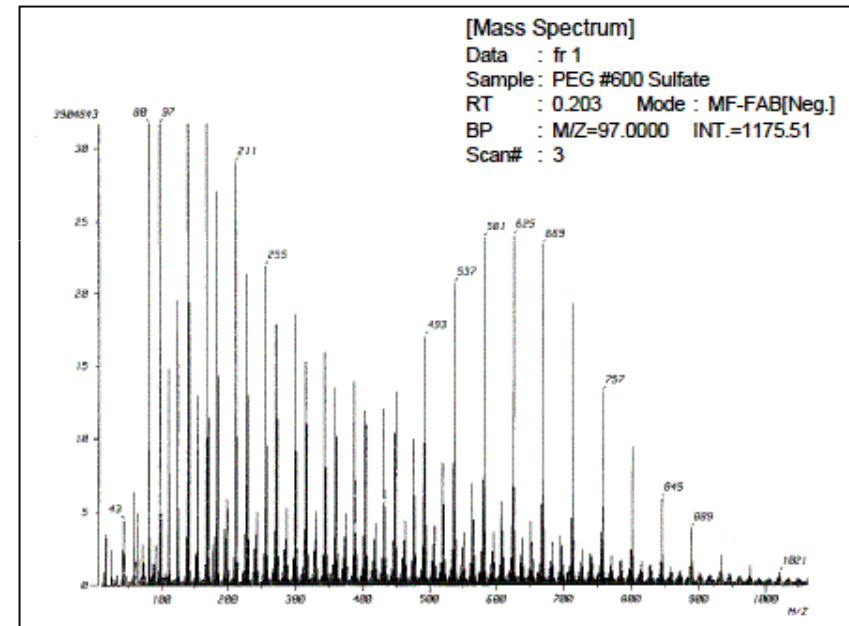
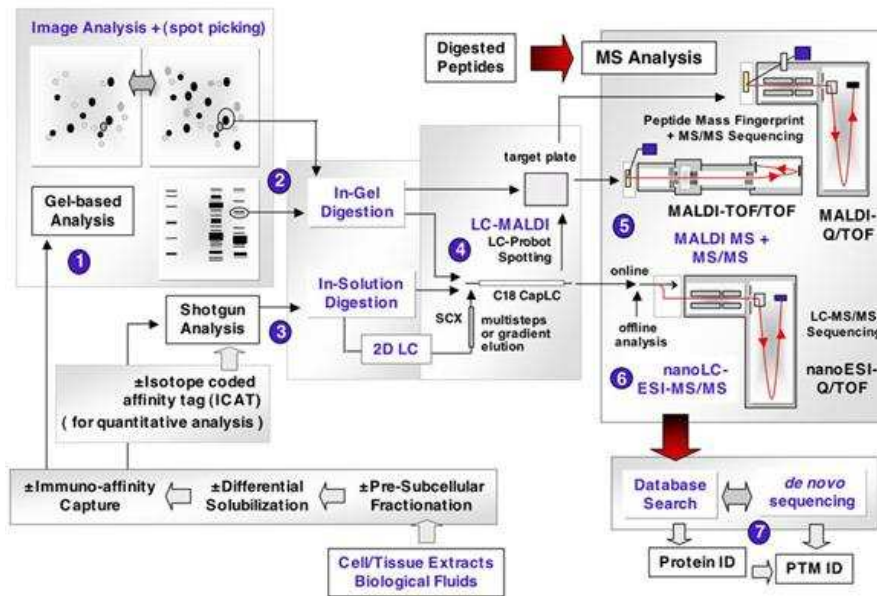
- **Ekstraktion**
- **Præparation**
- Separation
- Identifikation
- Kvantificering
- (Karakterisering)

2 dimensional gel elektroforese

- Proteom analyse
- Hypotese-generering



Massespektrometri



Negative FAB/MS spectrum of P1185 PEG #600 Sulfate

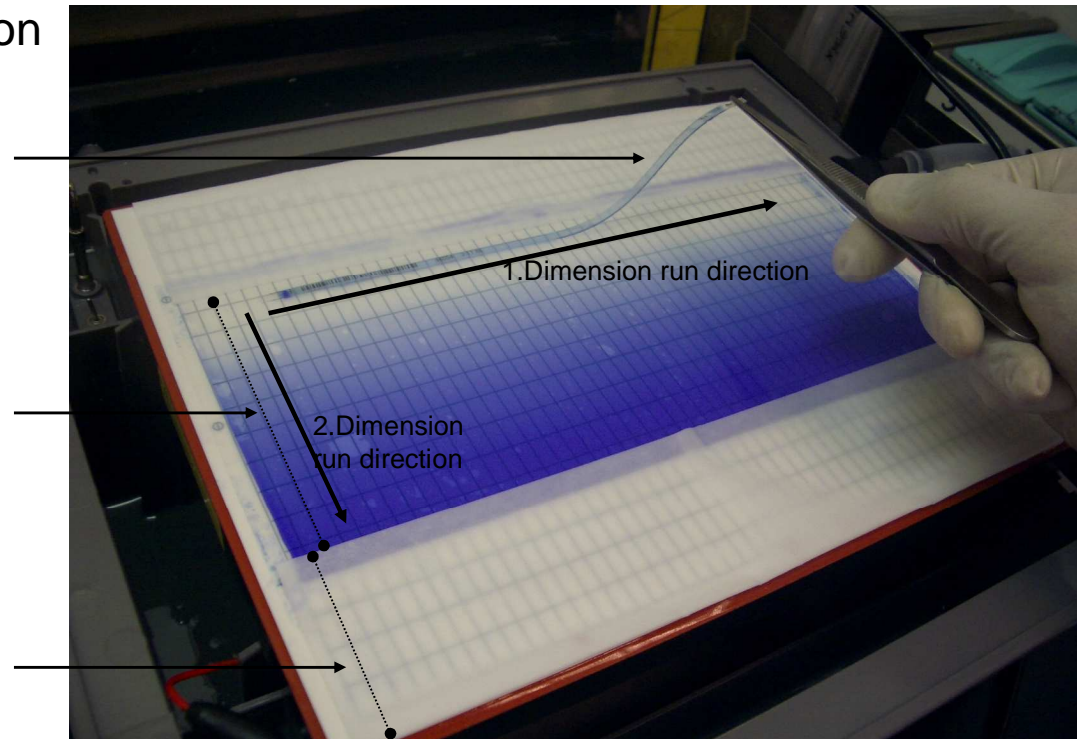
2 Dimensional gel elektroforese

2nd Dimension

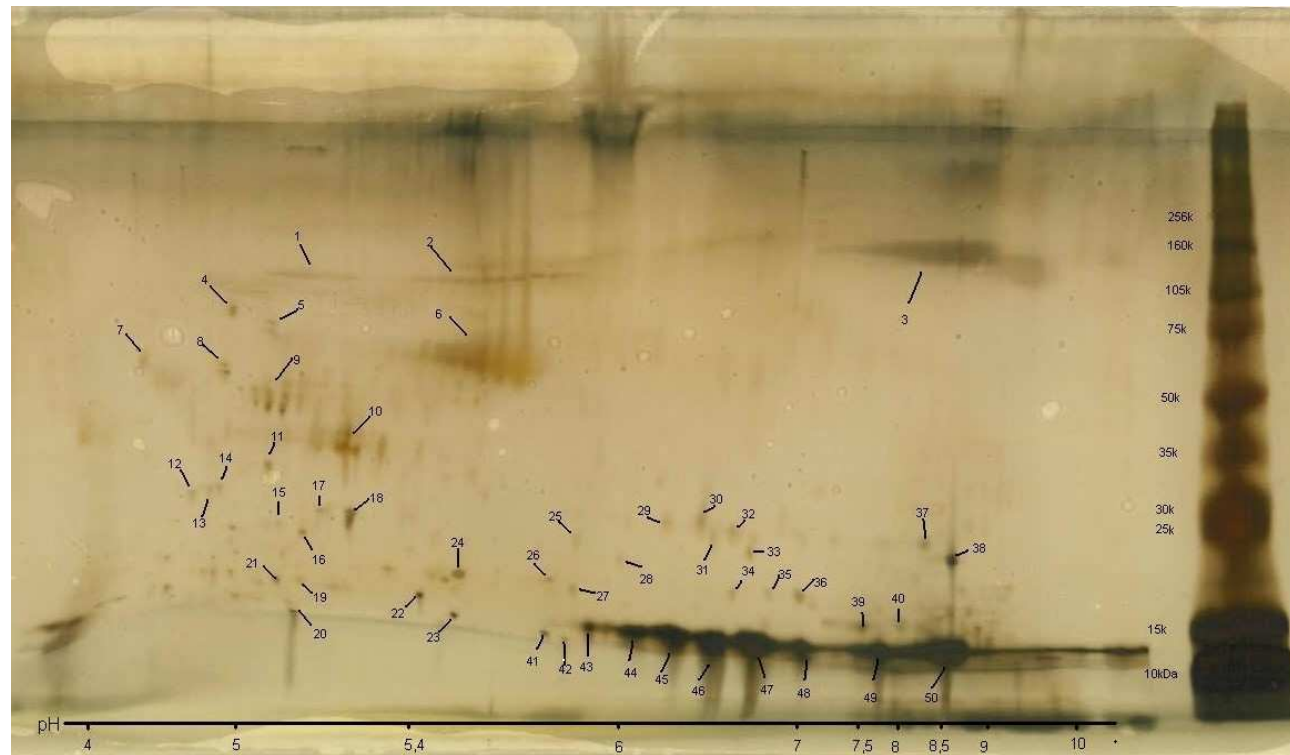
1.Dimension
IPG strip

2.Dimension
Slab gel

Electrode wick



2DE af normal mellemøre mucosa



Diplomopgave (forskningsår), afd.H, Århus Sygshus, 2004

Anders Britze

Hovedvejleder: Prof. Overl. dr.med. Therese Ovesen

2DE af normal mellemøre mucosa

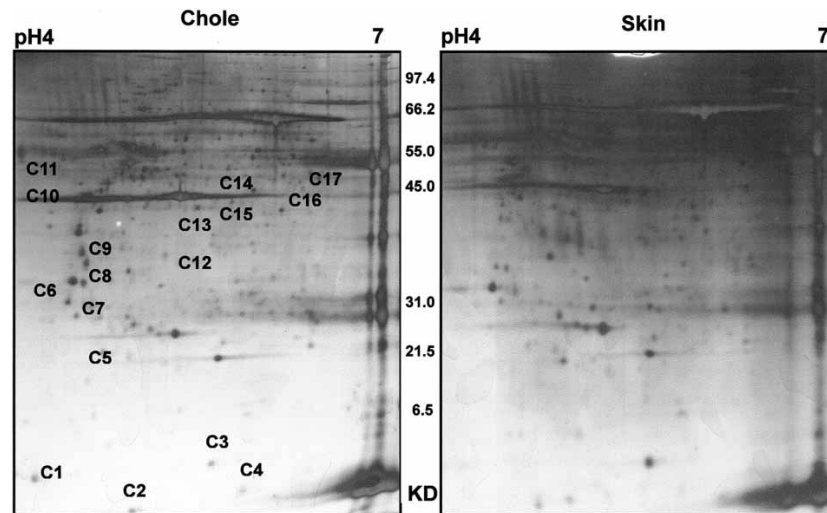
- Første/eneste undersøgelse på normalt væv.
- Yderst sparsomt materiale
- Identifikation af de 46 stærkest repræsenterede proteiner.

Proteomforskning på Cholesteatomvæv

- Biopsi-størrelse
- Vævets karakter
- Egnede reference..

2DE på cholesteatom

- Et enkelt 2DE studie fra 2004
 - Ca. 600 prikker (mulige proteiner) findes
 - 17 udvælges og identificeres



Kim, Jeong Lim and Jung, Hak Hyun(2004)'Proteomic analysis of cholesteatoma',Acta Oto-Laryngologica,124:7,783— 788

Metoder for aktuelle ph.d. projekt: "Cholesteatomets proteom"

- Første pilotkørsel med detektering **og identifikation** af ca. **1100 proteiner!** (Næsten dobbelt så mange proteiner som Kim, Jeong Lim and Jung, Hak Hyun, 2004)
- LTQ, Orbitrap nanoLC-MS/MS (Nano-liquid chromatografi koblet tandem Hybrid Linear Quadrupole Ion Trap Orbitrap massespektrometri). Forudgået af indledende separation: IEF eller SDS PAGE
- Herudover antistofbaserede flow-analyse metoder til mere specifikke analyser af vækst- og inflammationsfaktorer.
- Evt. kombineret med 2DE, ELISA, immunhistokemi og andre specifikke analyser.

Proteomforskning

- Informationsmængde!
- Arbejdskrævende
- Efterfølgende mere specifikke metoder