

# Foszforiláció vizsgálatához szükséges minta-előkészítési módszerek fejlesztése

Turiák Lilla<sup>1</sup>, Bugyi Fanni<sup>1</sup>, Tóth Gábor<sup>1</sup>, Nyitrai László<sup>2</sup>

<sup>1</sup>MS Proteomika Kutatócsoport, Természettudományi Kutatóközpont  
<sup>2</sup>Biokémiai Tanszék, Biológiai Intézet, Eötvös Loránd Tudományegyetem



## Foszforiláció

- Általánosan előforduló poszt-transzlációs módosulás
- Jelátviteli és szabályzó mechanizmusok során elengedhetetlen
- Tömegspektrometriás vizsgálata kihívásokkal teli
- Mérések előtt dúsítás szükséges → foszfopeptid szinten



Turiák Lilla



Bugyi Fanni



Tóth Gábor



Nyitrai László

## Mintaelőkészítés

Tömegspektrometriás peptidszekvenálás  
 Adatértékelés

Bruker MaXis II ETD tömegspektrométer, nanoUHPLC  
 Mascot és Byonic adatbázisok



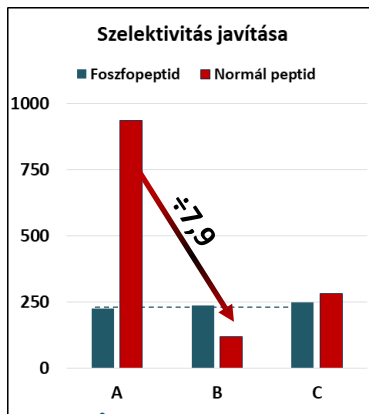
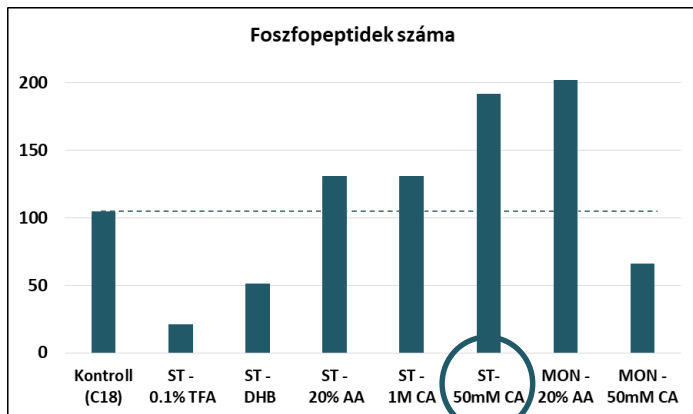
AZ NKFI ALAPBÓL  
 MEGVALÓSULÓ  
 PROJEKT

## Célkitűzések

- Kiemelten kis mennyiségű komplex minták vizsgálata
- Foszfopeptid dúsítására alkalmazható SPE módszerek fejlesztése
- Különböző állófázisok és mozgófázisok összehasonlítása

## Dúsítás hatékonysága

A foszfopeptid megkötésének hatékonysága és a normál peptidokkal való nem specifikus kölcsönhatások jelentős mértékben függenek a felviteli oldószerek pH-jától és leszorító-agens tartalmától.



250 ng  
 HeLa sejtvonal  
 triptikus emésztmény

A: 0,1% TFA + 50 mM CA  
 B: 1,5% TFA + 50 mM CA  
 C: 0,1% TFA + 50mM CA + 0,2% HFBA + 1,5% AA

Kontroll: 0,73% PP  
 Dúsított (B): 66,57% PP

91-szeres dúsítás!

ST: TiO<sub>2</sub> spin tip SPE

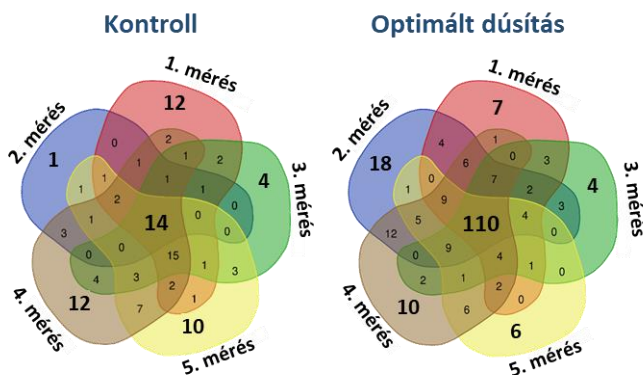
MON: TiO<sub>2</sub> funkcionizált monolit kolonna

## Ismételhetőség

Mind az 5 párhuzamosban

Kontroll: 13,3%  
 Dúsított (B): 46,4%

3,5-szörös ismételhetőség-növekedés!



## Eredmények

- Nagy hatékonyságú foszfopeptid dúsítási módszer kidolgozása
- Azonosítás hatékonyságának növelése
- Minőségi és mennyiségi ismételhetőség javítása
- Potenciális alkalmazhatóság szöveti mikrometszetekre