P36

Aplicación de proteómica a la búsqueda de nuevos mecanismos tumorales en cáncer de tiroides

Joana S.Rodrigues[1], María E.R. Garcia-Rendueles [1], Angela R. Garcia-Rendueles [1] , Sihara Perez[1] , Francisco Barreiro[2] , Jose Cameselle-Teijeiro[3], Clara Alvarez[1] & Susana Bravo[1]

[1] Departamento de Fisiología; [2] Departamento Cirugía; [3] Departamento de Cirugía, CIMUS-IDIS y Hospital Clínico-Universitario (CHUS), Universidad de Santiago de Compostela

joana.sousa@usc.es

Hasta el momento, son pocos los estudios realizados en enfermedades proliferativas de tiroides por técnicas proteómicas. Nuestro grupo tiene una gran experiencia en cultivos primarios de tiroides humano. Por eso creemos de gran interés la búsqueda de marcadores proteómicos mediante 2D-PAGE acoplada a MALDI-TOF/TOF-MS en estas muestras.

(1) Estandarizar las condiciones de extracción **(2)** Análisis proteico mediante fraccionamiento por geles 2D-PAGE y posterior estudio por PDQuest de las proteínas expresadas diferencialmente entre muestras normales o de patologías hiperplásicas benignas (síndrome de Pendred) y carcinomas papilares diferenciados de tiroides de nuestro BANTTIC (Bank of Thyroid Tumors In Culture).

Una vez crecidas hasta un número suficiente de células se procede a la extracción de las proteínas mediante lisado con tampón de lisis: 7M Urea, 2M Thiourea, 4% CHAPS, 40m MDTT. 50 µg de proteínas se rehidratan y se cargan en tiras de rango de pH 3-10 y 11cm para la 1ª dimensión y se someten a un enfoque de 6000V. La 2ª dimensión se realiza en geles SDS-PAGE 15%. Los spots se visualizan por tinción de plata. 3 geles por muestra se escanean con un densitómetro GS800 y se analizan por PDQuest.

De los 131 puntos identificados, 22 presentan diferencias estadísticamente significativas (test *t-Student* con $p<0.05$) y 12 están incrementados en carcinomas papilares diferenciados de tiroides frente a los tirocitos normales.

Los spots estadísticamente significativos se identifican por MALDI-TOF/TOF-MS. Una de las proteínas que salen en nuestro análisis proteómico es una variante de bajo peso molecular, el spot 8002. Para la validación de esta proteína se están haciendo estudios en cultivos de carcinomas de tiroides, en las diferentes isoformas de la proteína 8002 por western blot, en el efecto del siRNA8002, en la sobreexpresión de la isoforma 1 o 2 y su localización por imunofluorescencia.