

P6

Caracterización de nuevos sustratos de metaloproteasas en cáncer de mama mediante marcaje metabólico diferencial (SILAC)

Gemma Reverter-Branchat, Joan-Josep Bech-Serra, Marta Monge, Núria Colomé, Francesc Canals

¹ *Laboratori de Proteòmica, Vall d'Hebron Institute of Oncology (VHIO), Barcelona*

greverter@vhio.net

ADAM10, ADAM17 (TACE) y ADAMTS1 son proteínas con actividad metaloproteasa que comparten un dominio desintegrina en su estructura. ADAM10 y ADAM17 están localizadas en la membrana celular mientras que ADAMTS1 se encuentra en la matriz extracelular. Sus principales sustratos incluyen precursores de factores de crecimiento, citoquinas, receptores de factores de crecimiento, receptores de citoquinas y moléculas de adhesión. Se ha descrito que estas proteasas desempeñan un papel importante en la formación y progresión tumoral a través de la regulación del microambiente tumoral. Esto se produce mediante la remodelación de la matriz extracelular y el procesado específico de proteínas de membrana o extracelulares.

El conjunto de sustratos sobre los que estas proteasas actúan (degradoma) varía en función del entorno y hasta el momento no ha sido caracterizado al completo. El objetivo de este estudio consiste en identificar nuevos sustratos en el contexto del cáncer de mama. Para ello se ha seleccionado un panel representativo de líneas celulares de cáncer de mama que poseen diferentes niveles de expresión de las formas precursoras y procesadas de ADAM10, TACE y ADAMTS1. La identificación de nuevos sustratos se lleva a cabo mediante estudios proteómicos diferenciales del medio extracelular condicionado, tratando las células con un inhibidor específico de metaloproteasas (BB-94). Para el análisis se ha utilizado marcaje SILAC (*Stable Isotope Labeling with Aminoacids in Cell culture*) y cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS/MS). Para optimizar la identificación de los sustratos de interés se ha puesto a punto un protocolo de aislamiento de proteínas glicosiladas del medio mediante el uso de la oxidación específica de los carbohidratos presentes en estas proteínas y su posterior aislamiento con soportes de hidrazida inmovilizada.