

## Proteomske analize s HIV okuženimi makrofagi:

SELDI je kratica za surface-enhanced laser desorption/ionization dodana kratica TOF pa pomeni, da uporabljamo masno spektrometrijo, ki temelji na analizi časa preleta ang. TOF (time of flight). SELDI predstavlja sistem, ki hkrati združuje dve tehniki in sicer kromatografijo ter masno spektrometrijo. Glavni cilj tega sistema pa je odkritje potencialnih kandidatov za biomarkerje bolezni. Aparat sestavlja proteinski čip sestavlja eno kolono, ki je vsebuje osem kemijsko aktivnih točk, premera 2mm označenih od A do H. Mere in oznake so standardne zaradi omogočanja enotnosti delovanja metod v različnih laboratorijih ter tudi zaradi tega, da so lahko avtomatične pipete prilagojene na standarde po katerih so tudi izdelane. Dvanajst kolon se združi v niz, ki sestavlja en microplate, ta pa je vstavljen v kaseto. Kolono gradi kovinska osnova na kateri je nosilec prilagojen glede na tip kromatografije. Hkratno lahko izvajamo več kromatografij odvisno od potreb. Delo metode SELDI v grobem delimo na štiri stopnje. V prvi stopnji izberemo tip kolone in s tem katero kromatografijo bomo izvajali. V drugi stopnji vzorce pripravimo na izvajanje masne spektrometrije TOF. Pomemben korak v tej stopnji je dodatek EAMS-a ang. energy absorbing molecules. Dodatek te kemikalije, ki hkratno deluje kot organsko topilo je, da pri sušenju vzorca povzroči tvorbo kristalov. S tehniko preleta, ki sledi merimo hitrost delcev iz katere lahko izračunamo razmerje med maso in nabojem računalniški programi pa podatke analizirajo in podajo maso proteina v kD. To pa je naš končni iskani podatek. Na koncu lahko vse dobljene rezultate primerjamo z bazo podatkov ter tako identificiramo protein. Hkratno pa lahko z metodo SELDI opazujemo tudi nivo izražanja genov za določene protein, ter s tem posledično spremljamo prisotnost proteina v zdravih ter okuženih vzorcih. Slednje je tudi točka v procesu razvoja biomarkerjev ter opazovanju razvoja bolezni.

## PRIMER RAZISKAVE

Placentni makrofagi v primerjavi z makrofagi, ki so pridobljeni iz monocitov, uspešneje omejujejo replikacijo virusa HIV. Glede na to, da lahko na podlagi citosolnih proteinskih vzorcev razlikujemo podtipе makrofagov, so znanstveniki uporabili proteomski pristop, ki je vključeval SELDI-TOF, tandemsko masno

spektrometrijo in prenos westrn, da bi določili razlike med proteinskimi profili s HIV okuženih in neokuženih placentarnih in monocitnih makrofagov. Proteomsko analizo so izvedli v molekularnem razponu 5-20 kDa. Ugotovili so, da proteinski vrh z  $m/z$  11 100, ki je bil bistveno nižji pri placentarnih (neokuženih in okuženih) kot pa pri monocitnih makrofagih, pripada cistatinu B. Ti podatki kažejo, da se citosolni proteini različno izražajo v okuženih placentarnih in monocitnih makrofagih in da ima cistatin B potencialno vlogo pri omejevanju razmnoževanja virusa HIV. Ta raziskava služi odkrivanju biomarkerjev in novih načinov nadzorovanja okužbe s HIV.

Ula Štok, Mirjam Kmetič, Sara Primec