

DIPARTIMENTO DI AREA CRITICA MEDICO CHIRURGICA

PROGETTO

Analisi proteomica della leucemia mieloide cronica

RESPONSABILE SCIENTIFICO: Prof.ssa **Valeria Santini**

COLLABORATORI: G. Ferrari, A. Gozzini, R. Pastorelli

La resistenza a Imatinib rappresenta un fattore critico per la terapia delle leucemie mieloidi croniche (LMC). Con lo scopo di comprendere meglio il meccanismo molecolare della resistenza a questo farmaco è stato intrapreso un approccio proteomico sulla linea cellulare modello LAMA 84-S (sensibile a Imatinib) e LAMA 84-R (resistente a Imatinib). Gli estratti proteici cellulari totali sono stati separati mediante elettroforesi bidimensionale (2DE), e le mappe bidimensionali ottenute sono state confrontate per stabilire la presenza di proteine con diverso livello di espressione, poi identificate attraverso analisi in spettrometria di massa MALDI-TOF.

Sono state identificate quarantacinque proteine, ripartite in 5 classi funzionali: I) Heat shock proteins e Chaperonine II) Proteine interagenti con gli Acidi Nucleici, III) Proteine Strutturali, IV) Cell Signalling e V) Enzimi Metabolici.

In dettaglio, alcune Heat Shock Proteins, note per legare il complesso Bcr-Abl/Hsp90, sono risultate over espresse nelle cellule Imatinib Resistenti, mostrando un possibile coinvolgimento nello stesso meccanismo di resistenza.

Al fine di indagare i possibili effetti sulla resistenza a Imatinib di farmaci antitumorali della classe degli Inibitori delle Istone-Deacetilasi (HDACis), lo studio proteomico delle LMC è stato ampliato alla caratterizzazione delle modificazioni del fosfoproteoma e dell'acetiloma in seguito alla somministrazione di tali farmaci come singoli agenti e in combinazione con Imatinib sulle linee cellulari modello.

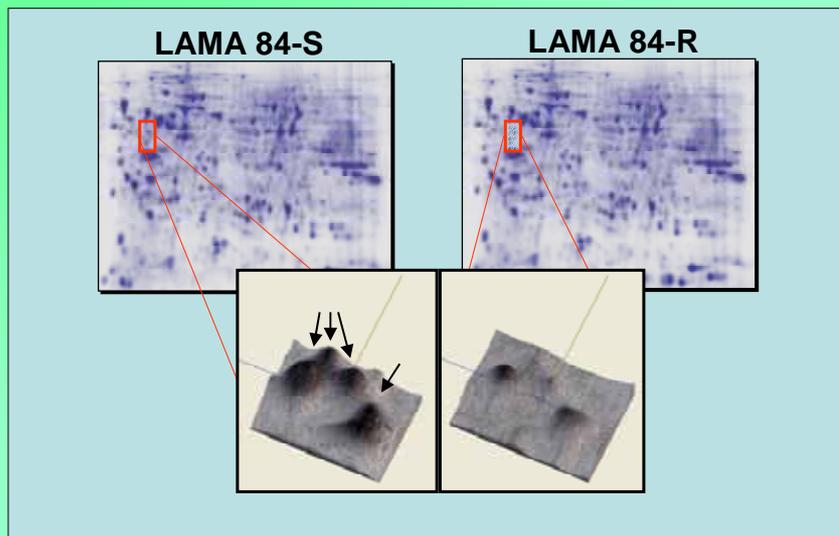
Western blot bidimensionali sono stati realizzati con anticorpi specifici e confrontati con gel bidimensionali relativi per il recupero delle spot di interesse e l'identificazione tramite spettrometria di massa. Un numero significativo di proteine è stato individuato modificare il proprio grado di acetilazione /fosforilazione in seguito al trattamento con Imatinib/HDACis; la maggior parte di esse presenta ruoli di chaperone o di shuttle.

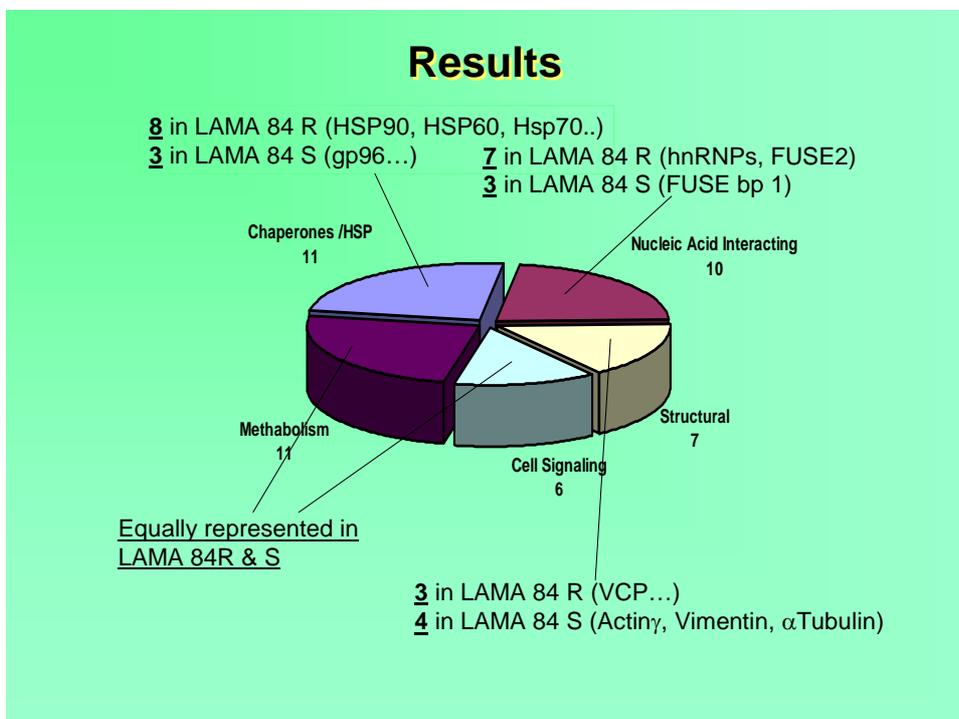
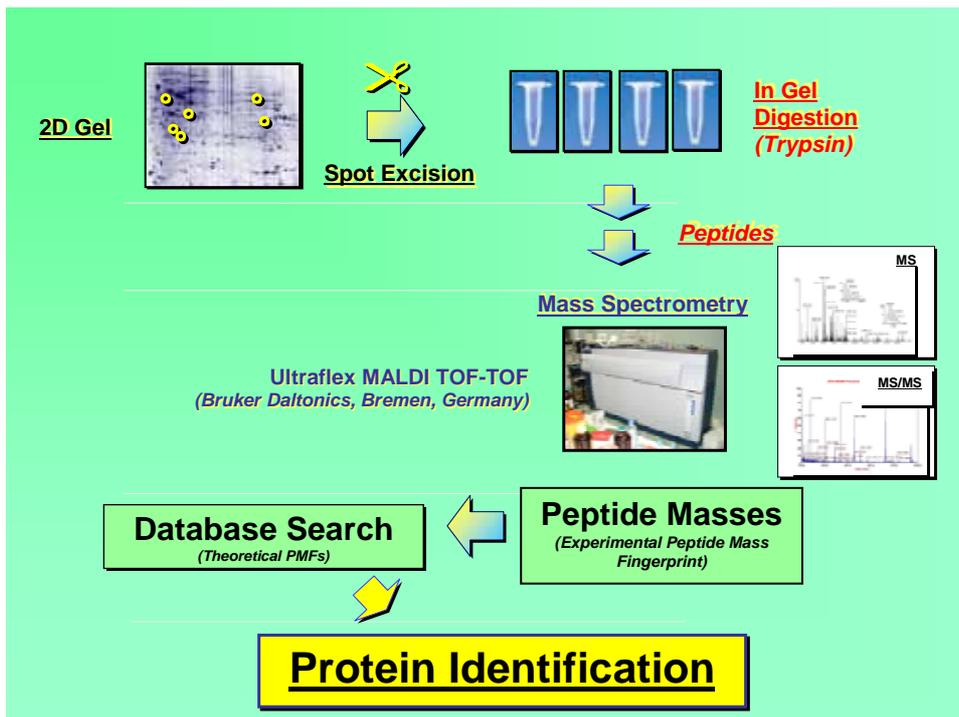
ANALISI PROTEOMICA

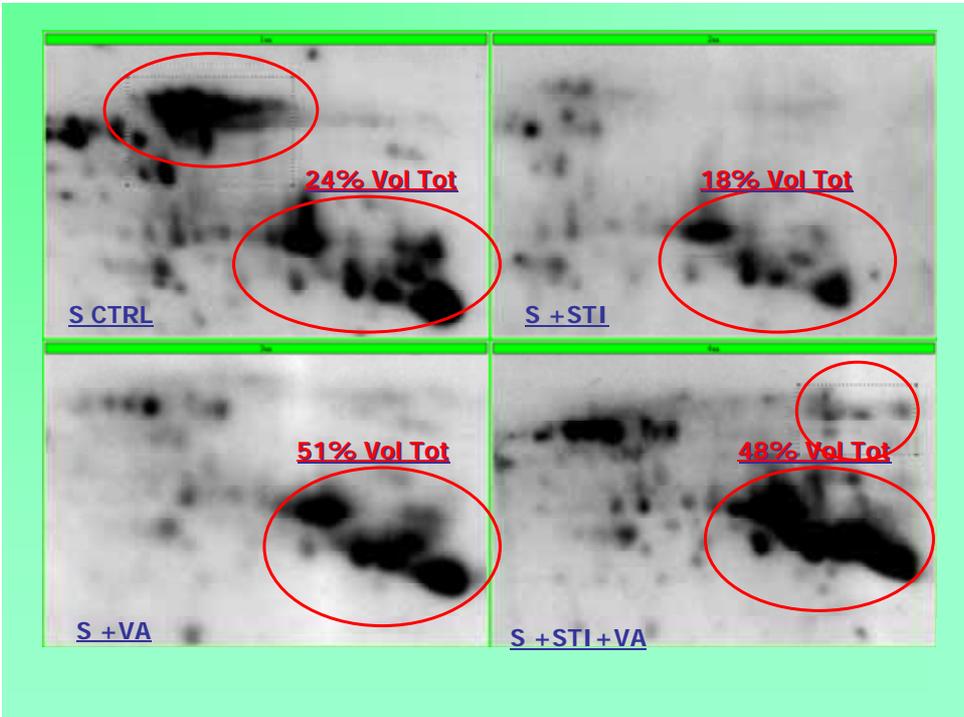
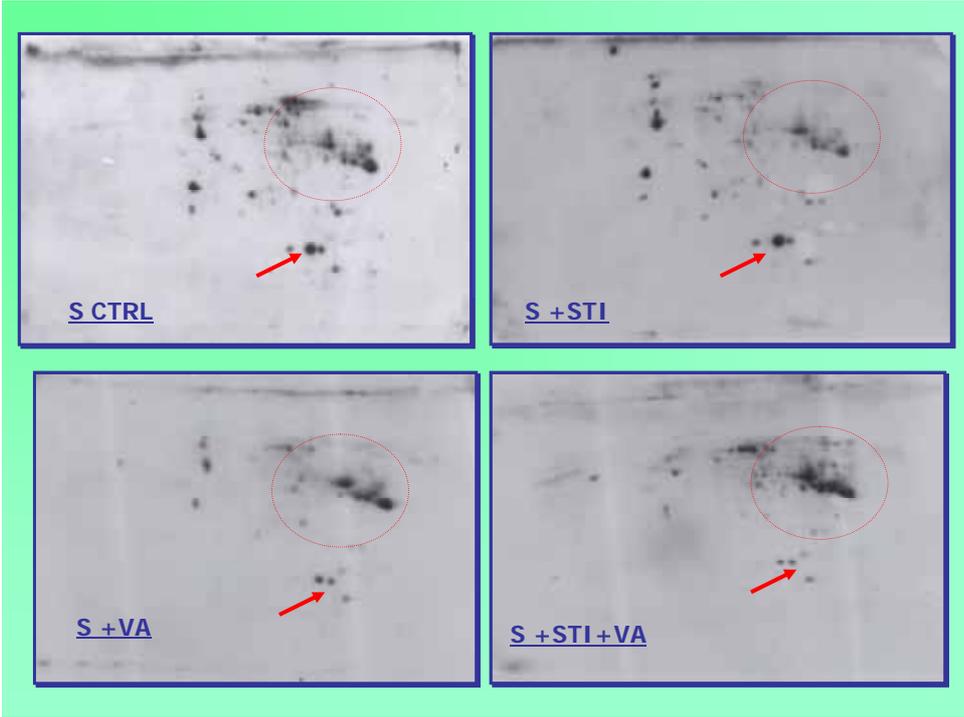
DELLA LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA

Germano Ferrari, Antonella Gozzini, Roberta Pastorelli,

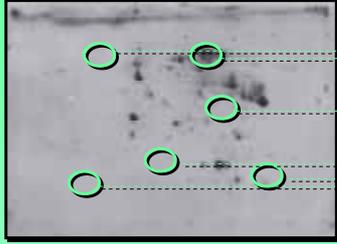
Valeria Santini, *AUO Careggi Dip. DAC, Unità Funzionale di Ematologia*



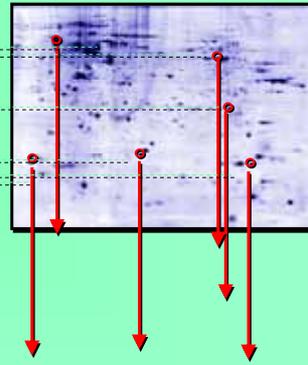




2D WB: Acetylated Proteins



SD GEL: Total Proteins



Spots to be identified