

INTISARI

Latar belakang. Galur sel T47D merupakan galur sel kanker payudara yang banyak digunakan untuk penelitian patogenesis, patofisiologi, dan pengembangan obat. Salah satu parameter baru yang dikembangkan adalah mendeteksi profil proteom sel pada berbagai kondisi. Kromatografi cair kinerja tinggi – spektrofotometri massa (KCKT-SM) merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mendapatkan data profil proteom. Hingga saat ini belum terdapat penelitian yang menganalisis profil proteom T47D secara menyeluruh.

Tujuan penelitian. Mengetahui pengaruh variasi gradien fase gerak, resolusi KCKT-SM dan konsentrasi tripsin terhadap jumlah protein T47D yang terbaca oleh KCKT-SM serta memberikan gambaran profil proteom T47D yang didapatkan dengan metode yang paling banyak jumlah proteinnya.

Metode. Galur sel T47D diisolasi proteinnya kemudian didigesti dengan tripsin (rasio tripsin : protein = 1:25; 50; 75; 100 w/w). Peptida hasil digesti dengan rasio 1:25 (w/w) dianalisis dengan KCKT-SM dengan beberapa varian sistem gradien fase gerak dan resolusi KCKT-SM. Varian dengan jumlah protein terbanyak digunakan untuk menganalisis ketiga rasio lainnya. Variasi dan konsentrasi tripsin yang menghasilkan jumlah protein terbanyak dipilih sebagai metode paling optimum. Profil proteom yang didapatkan dari metode tersebut dikelompokkan berdasarkan fungsi biologis, fungsi molekuler, dan lokasi asal protein.

Hasil penelitian. Jumlah protein terbanyak (370) didapatkan pada varian dengan sistem gradien dengan peningkatan yang lebih tajam dan resolusi KCKT-SM 70.000 dengan rasio tripsin : protein 1:25 (w/w). Penanda utama T47D, *estrogen receptor* (ER) dan *progesteron receptor* (PR) tidak terdeteksi dalam penelitian ini.

Kesimpulan. Gradien fase gerak yang lebih tajam dan resolusi KCKT-SM 70.000 dan peningkatan konsentrasi tripsin dapat meningkatkan jumlah protein yang terbaca oleh KCKT-SM. Metode yang paling optimum pada penelitian ini belum dapat memberikan gambaran profil proteom T47D secara keseluruhan.

Kata kunci: T47D, proteom, KCKT-SM

ABSTRACT

Background. T47D cell line is one type of breast cancer cell line, which widely used for research in pathogenesis, pathophysiology, and drug development. Detection of proteomic profile in various conditions is one of the new developed parameters. Liquid chromatography - mass spectrophotometry (LC-MS) is one of the methods used to obtain proteomic profile data. There have been no studies analyzing overall proteomic profile of T47D until now.

Objective. To observe the effect of variations in mobile phase gradient, LC-MS resolution, and trypsin concentration on the number of T47D proteins identified by LC-MS and provides a proteomic profile of T47D obtained by the method with the highest amount of proteins.

Methods. The protein isolated from T47D was digested with trypsin (trypsin : protein ratio = 1:25; 50; 75; 100 w/w). Digested peptides from 1:25 group were analyzed by LC-MS with several variations of mobile phase gradients and LC-MS resolutions. Variant with the highest amount of identified protein was used to analyze the other three trypsin ratios. The variation and trypsin concentration that produce the highest amount of proteins was chosen as the most optimal method. Proteomic profiles from this method were categorized based on their biological function, molecular function, and cellular component.

Results. The highest amount of protein (370) was obtained from variant with steeper gradient increase and LC-MS resolution of 70,000 with ratio of trypsin : protein 1:25 (w/w). The main markers of T47D, estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PR) were not detected in this study.

Conclusion. Steeper mobile phase gradient, the resolution of 70,000 and higher trypsin concentration increased the amount of protein detected by LC-MS. The most optimum method in this study has not been able to provide the overall T47D proteomic profile.

Keywords: T47D, proteomic, LC-MS