



**HAL**  
open science

## Identification des protéines par MALDI-TOF après électrophorèse 2D : Performance et compatibilité comparaison du bleu colloïdal (CCB), nitrate d'argent (SN), Spyro<sup>TM</sup> Ruby (SR) and Deep Purple<sup>TM</sup> (DP)

Nicolas Sommerer, François Chevalier, Valérie Rofidal, Delphine Centeno, Marc Tauzin, Olivier Martin, Thierry Becue, Michel Rossignol

### ► To cite this version:

Nicolas Sommerer, François Chevalier, Valérie Rofidal, Delphine Centeno, Marc Tauzin, et al.. Identification des protéines par MALDI-TOF après électrophorèse 2D : Performance et compatibilité comparaison du bleu colloïdal (CCB), nitrate d'argent (SN), Spyro<sup>TM</sup> Ruby (SR) and Deep Purple<sup>TM</sup> (DP). 1er Symposium de Chimie et Biologie Analytiques, Sep 2005, Montpellier, France. hal-04239209

**HAL Id: hal-04239209**

**<https://hal.science/hal-04239209>**

Submitted on 18 Oct 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Identification des protéines par MALDI-TOF après électrophorèse 2D : performance et compatibilité du bleu colloïdal (CCB), nitrate d'argent (SN), Sypro™ Ruby (SR) & Deep Purple™ (DP)



Nicolas Sommerer, François Chevalier, Delphine Centeno, Valérie Rofidal, Marc Tauzin, Olivier Martin, Thierry Bécue & Michel Rossignol

INRA - UR Protéomique, 2 place Viala, 34060 Montpellier



L'identification des protéines d'un gel d'électrophorèse bi-dimensionnelle par l'empreinte peptidique massique (PMF : Peptide Mass Fingerprint) dépend entre-autre du type de coloration utilisée pour révéler des protéines dans le gel. Certains protocoles de colorations ont dû parfois être optimisés, en particulier pour la coloration au nitrate d'argent [1].

## Matériel et méthode

### Électrophorèse 2D :

Les protocoles de coloration sont décrits en [2], celui spécifique au nitrate d'argent est celui décrit par Vorum [3]

### Digestion :

0,1µg de trypsine (dans 8µL de carbonate 25mM) : 4h à 37°C  
Les peptides extraits sont ensuite dessalés et concentrés sur ZipTip (Millipore) et déposés sur le cible MALDI (goutte séchée, acide α-cyano-4-hydroxy-cinnamique)

### Spectrométrie de masse :

MALDI-TOF Bruker Biflex III

Le protocole complet de digestion et de MALDI est décrit en [4]

## Le préalable : la qualité de la coloration

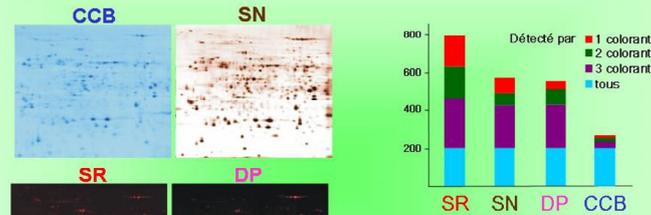


Fig. 2 : Nombre de spots détectés par les différents colorants (voir réf. [2])

Fig. 1 : Comparaison profils 2D : 100µg protéines d'*Arabidopsis t. pl* 4-7, MW 15-150kDa

## Résultats

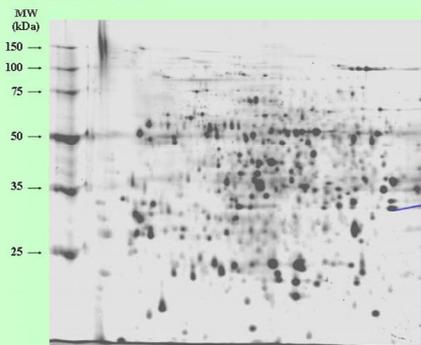


Fig. 3 : Carte 2D (SR), 100µg prot. solubles culture cellulaire *Arabidopsis*

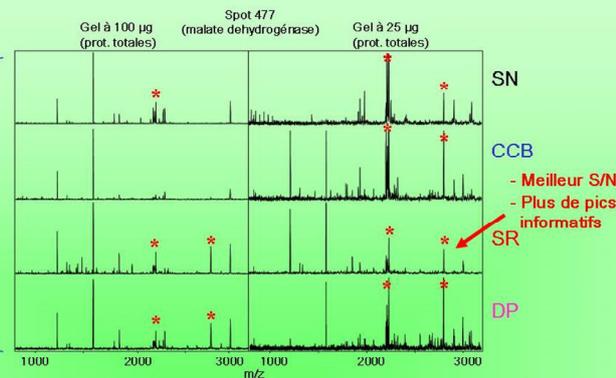


Fig. 4 : Cartes peptidiques massiques des gels à 100µg et à 25µg de protéines totales  
\* : pics d'autoprotéolyse de la trypsine

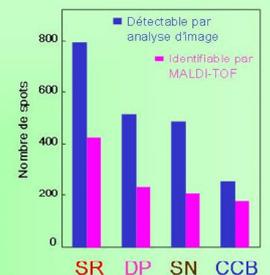
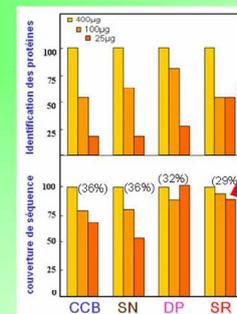


Fig. 5 : Nombre de spots détectables et identifiables (gel analytique à 100µg)

	CCB	SN	DP	SR
<b>A. identification</b>				
identifiés vs. non-identifiés				
M, pl	+	+	indép.	+
abondance	indép.	indép.	indép.	indép.
<b>B. couverture de séquence</b>				
M, pl	indép.	indép.	indép.	+
abondance	indép.	indép.	+	+
<b>C. propriétés des peptides détectés vs. non-détectés</b>				
MW	indép.	indép.	indép.	indép.
pl	indép.	indép.	indép.	indép.
contenu D-, E	+	+	+	+
hydrophobicité	+	indép.	indép.	indép.

**Pour le Sypro Ruby :**  
- la probabilité d'identifier la protéine ne dépend que de son abondance.

**Pour tous :**  
- les peptides acides sont moins détectés (moins ionisés)



**Sypro Ruby :**  
même à faible abondance, la probabilité d'identifier une protéine est importante

**Sypro Ruby et Deep Purple :**  
la couverture de séquence est indépendante de la quantité de protéines

Fig. 6 : Effet, par colorant, de la quantité de protéines sur l'identification en MALDI-TOF, résultats normalisés

## Conclusion :



## Références

- [1] Richert S, *Proteomics* 2004, 909-916
- [2] Chevalier F, *Phytochemistry* 2004, 1499-1506
- [3] Mortz E, *Proteomics* 2001, 1359-1363
- [4] Sommerer N, in : *plant proteomics, methods and protocols, to be published by Humana Press, Zivy, Méchin, Damerval & Thiellement Ed.*