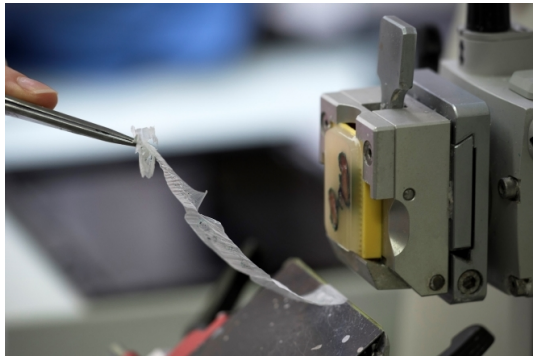
La quantification protéique par ratio d'enrichissement facilite le typage des amyloses par spectrométrie de masse

Bertrand Chauveau[1,2], Sylvaine Di Tommaso[3,4], Cyril Dourthe[3,4], Jean-William Dupuy[4], Frédéric Saltel[3,4], Anne-Aurélie Raymond[3,4], Brigitte Le Bail[1,3]

[1] Service de Pathologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux
[2] Université de Bordeaux, CNRS, ImmunoConcEpT, UMR 5164, Bordeaux,
[3] Université de Bordeaux, Inserm UMR1312 BoRdeaux Institute of onCology (BRIC), Bordeaux
[4] Plateforme Oncoprot, TBM-Core US 005, Bordeaux



Les amyloses

Maladie conformationnelle des protéines

acquise

héréditaire

Structure tertiaire instable => polymérisation sous forme de fibrilles insolubles dans la substance extracellulaire => DEPOTS

>40aine de protéines amyloïdogènes

Buxbaum et al, Amyloid 2022

APCS

APOA4

APOE

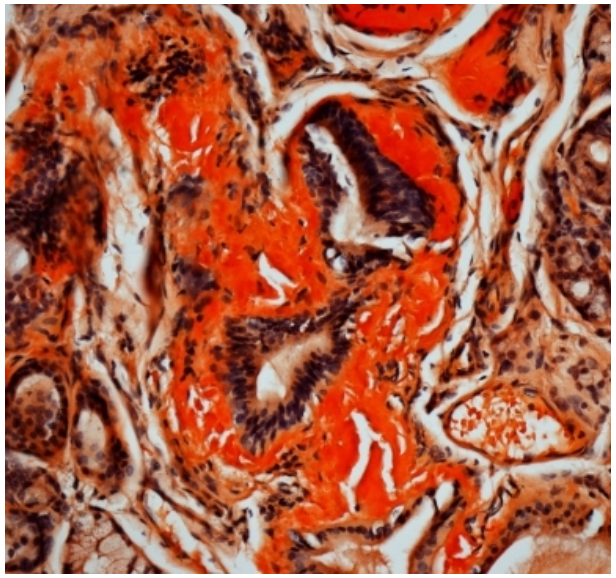
Types : AL, AA, ATTR (90% des amyloses)

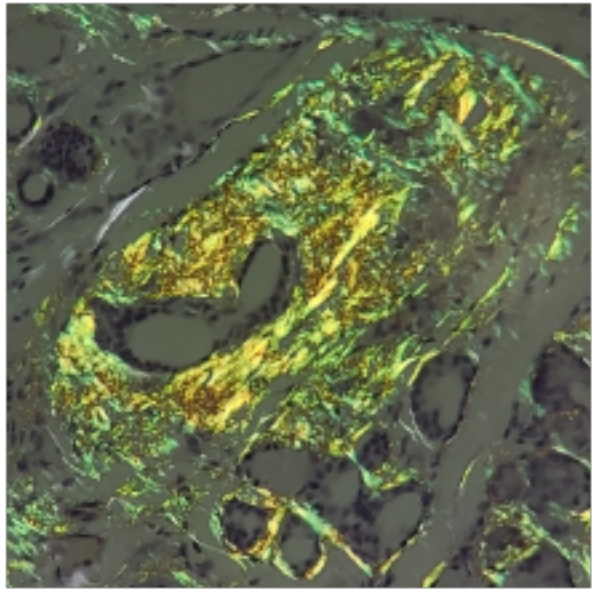
Dasari et al, Mayo Clin Proc. 2020

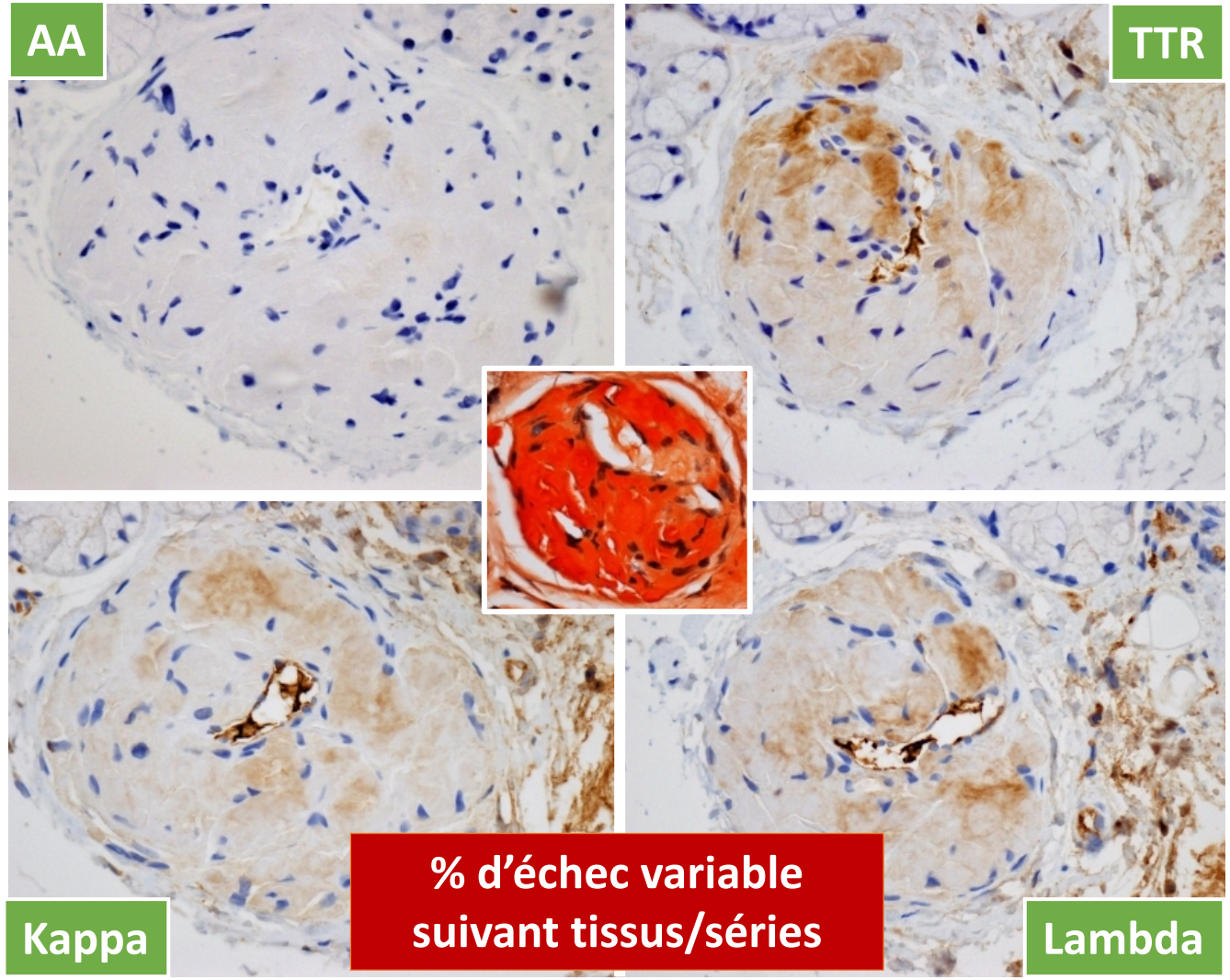
Dépôts localisés ou systémiques

Prise en charge dépendant de l'expression clinique et du type d'amylose/mécanisme du dépôt

Rôles du pathologiste : diagnostic et typage







% d'échec variable suivant tissus/séries

Typage difficile : alternatives

Microscopie électronique à transmission + immunogold

↓

Protéomique par spectrométrie de masse en tandem

Bloc de paraffine+++

MAYO CLINIC

Dasari et al, Mayo Clin Proc., 2020

Sans a priori+++

RIHN A122

UCL

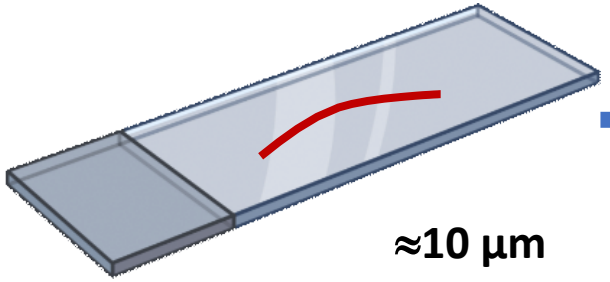
Canetti et al, Clin Chem Lab Med., 2020

Nouveau gold standard

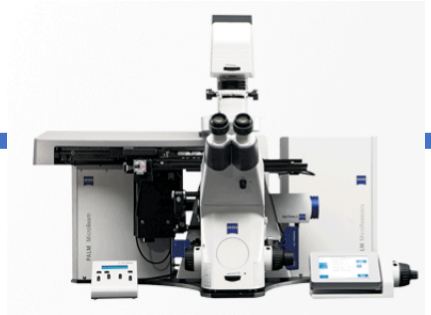
CHU de Toulouse

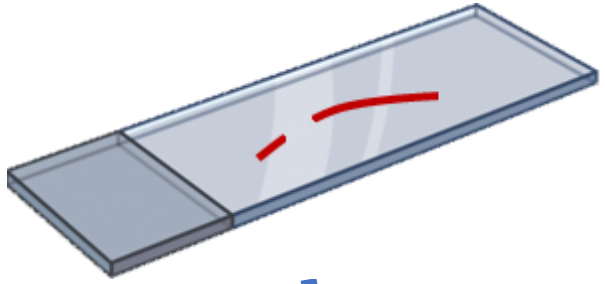
Colombat et al, Haematologica, 2022

Protéomique dans le typage des amyloses



≈10 µm





0,1 mm²

Zone avec dépôts d'amylose

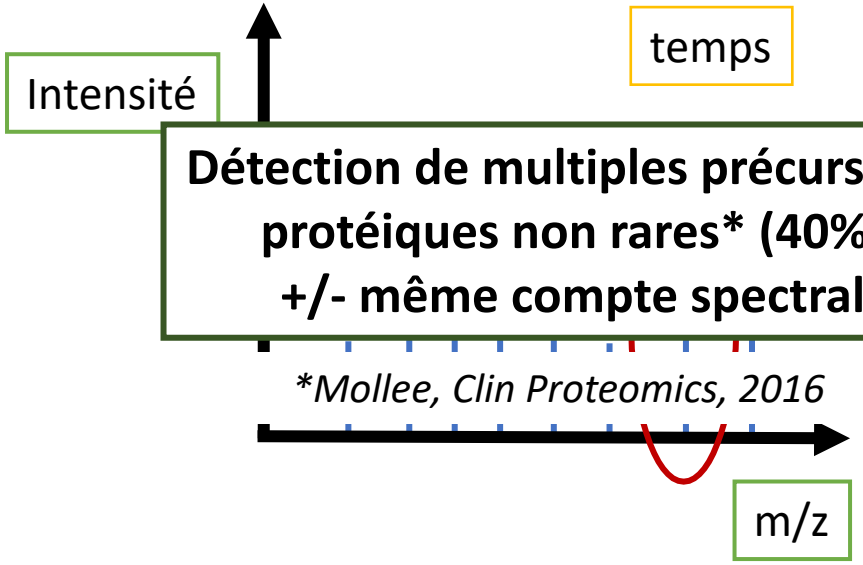
Workflow classique

Quantification par compte spectral

LC-MS/MS

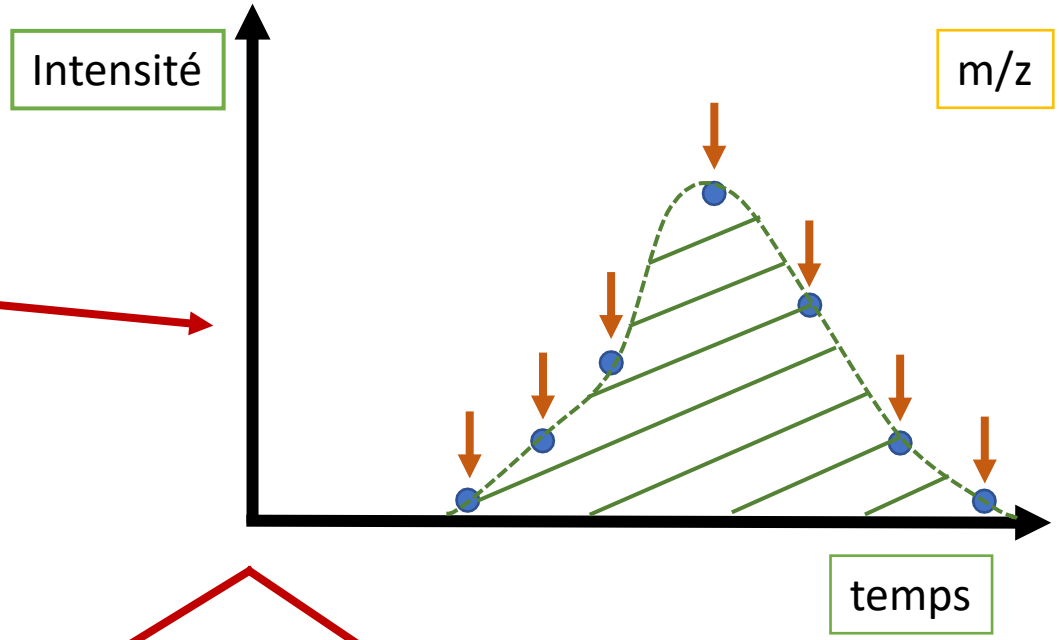
Spectromètre de masse

Quantification en spectrométrie de masse



Détection de multiples précurseurs protéiques non rares* (40%)
+/- même compte spectral

**Mollee, Clin Proteomics, 2016*



Quantification par nombre de spectre

Influencée par la longueur des protéines
et l'observabilité des peptides

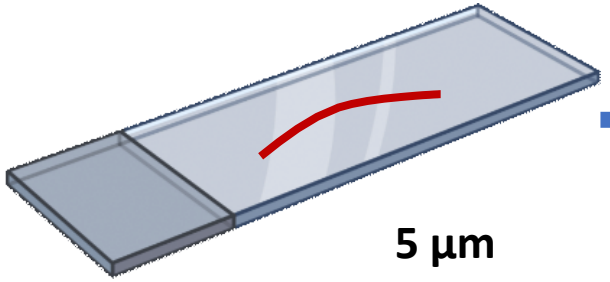
Workflow classique

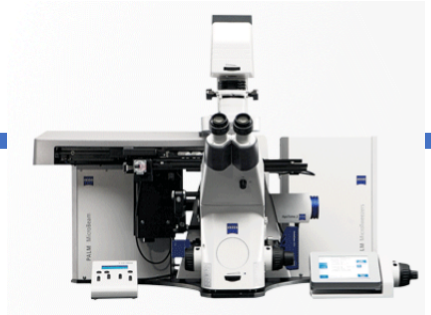
Quantification « label-free » basée sur l'intensité

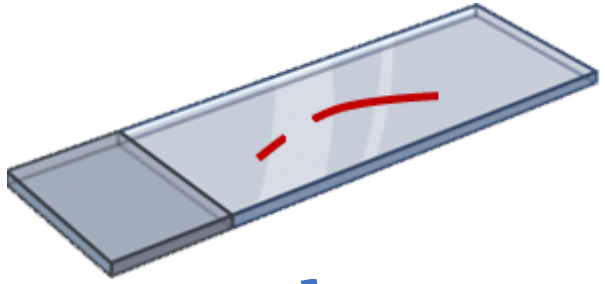
Plus robuste
Meilleur pouvoir discriminant

Ankney et al.
Annu Rev Anal Chem 2018

Calcul d'un ratio d'enrichissement protéique







0,5-1 mm²

Zone avec dépôts d'amylose

Zone sans dépôts d'amylose

OncoProt

Université de Bordeaux, TBM-Core US 005
F. Saltel
AA. Raymond
S. Di Tommaso

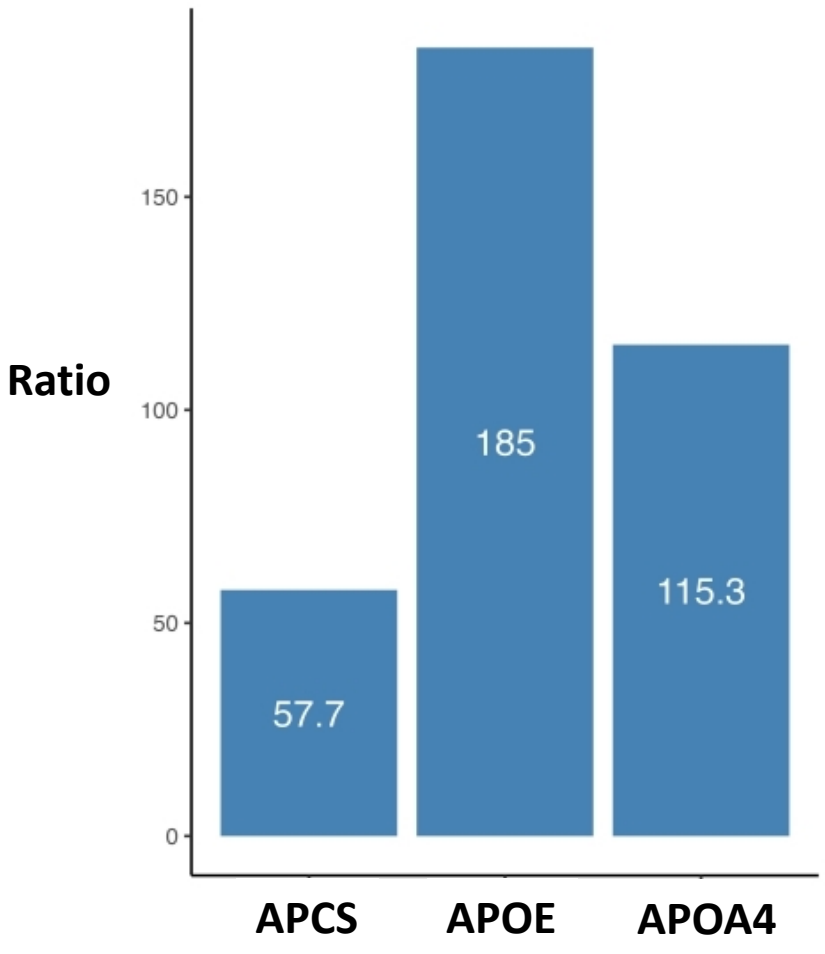
Calcul d'un ratio d'enrichissement avec quantification *label-free*

Analyse bioinformatique

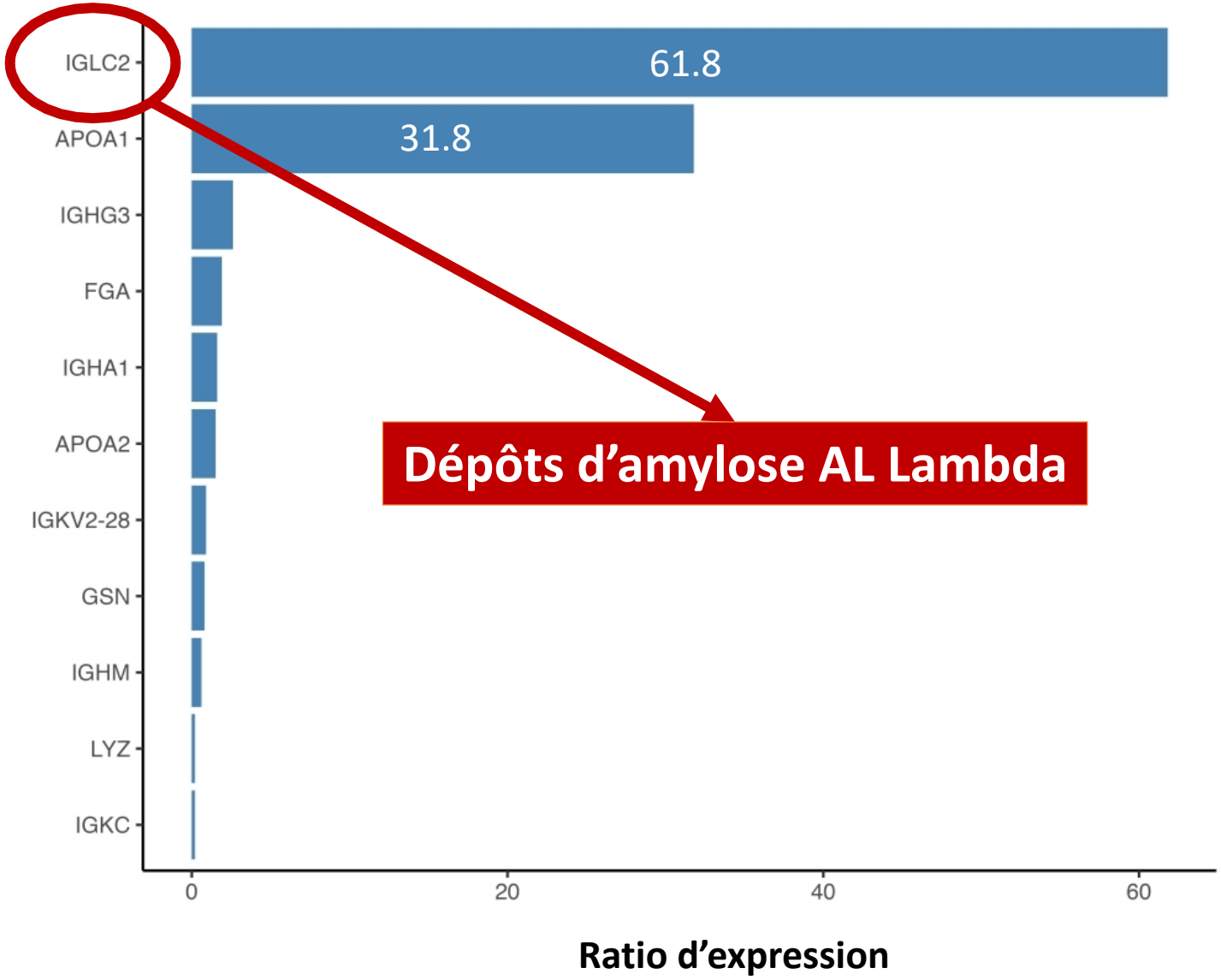
LC-MS/MS
Orbitrap Exploris 480

Patient de 83 ans, suspicion de lymphome digestif. Gammapathie monoclonale IgM Lambda.
Biopsie de glande salivaire accessoire : amylose?

216 protéines identifiées



Signature amyloïde



Dépôts d'amylose AL Lambda

Protéomique dans le typage des amyloses

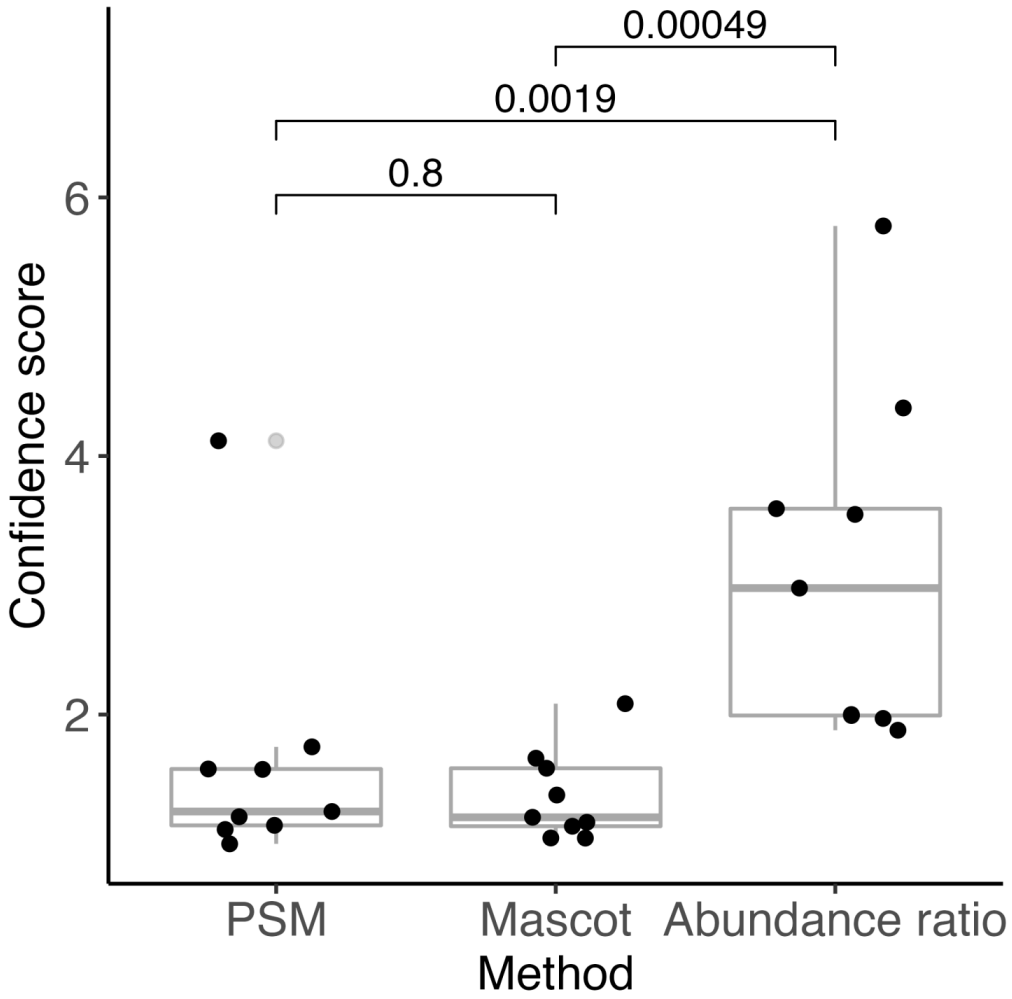
Cohorte de 9 cas d'amylose
4 AL
2 TTR
1 SAA
1 B2M
1 AH IgM

Biopsies, n=6
PO, n=3

BGSA, larynx, oie, rectum, …

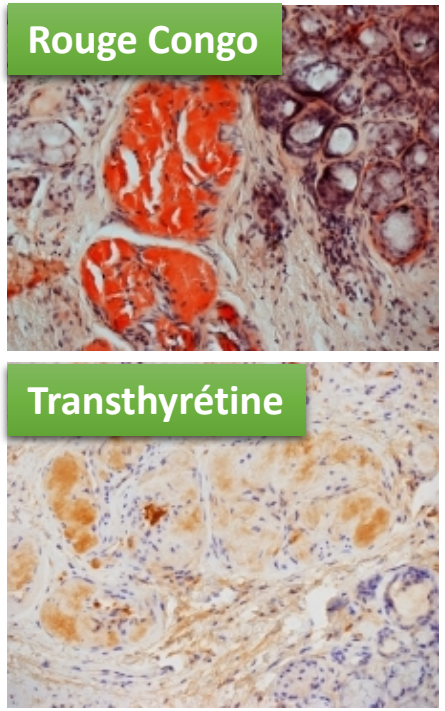
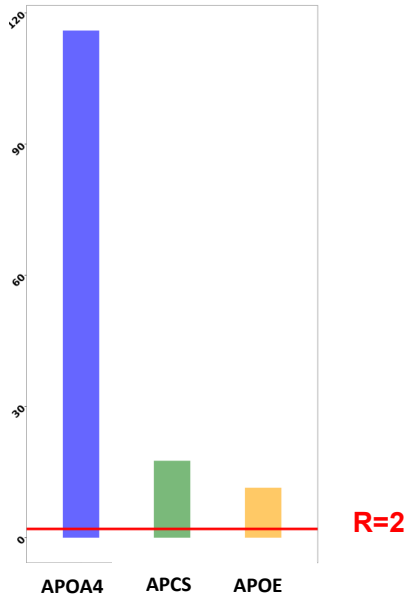
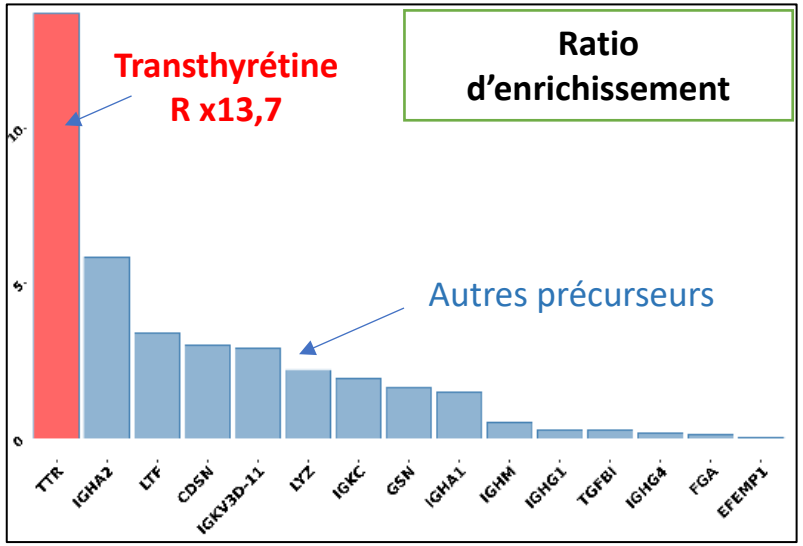
IHC non contributive dans 6 cas

Typage effectif en protéomique :
Compte spectral : 5/9
Ratio d'enrichissement : 9/9



Meilleur pouvoir discriminant du ratio d'enrichissement

Conclusion

La quantification par spectrométrie de masse avec calcul d'enrichissement protéique est une optimisation d'intérêt dans le typage des amyloses à partir de tissus fixés.

Nécessite la microdissection d'un région tissulaire non amyloïde/contrôle tissulaire.