

Caracterización Estructural de Proteínas y Proteómica por Espectrometría de Masas. MALDI-TOF y otras técnicas.

Curso de posgrado con créditos para el Doctorado en Ciencias Biológicas

Objetivos

El curso busca que los cursantes adquieran los conocimientos básicos en la temática de caracterización estructural de proteínas y de aplicaciones de proteómica, con particular énfasis en el funcionamiento del equipo MALDI-TOF y sus aplicaciones y que realicen una tarea de laboratorio como experiencia concreta de alguna de las diversas aplicaciones. Cabe destacar que la parte práctica del curso comprenderá tanto el uso específico del equipo para resolver muestras biológicas como así también resolución de problemas aplicados al procesamiento informático de la información derivada del uso del equipo.

El curso cuenta con la notificación de aprobación y financiamiento del SNEM.

Cuerpo Docente

Dr. Alberto A. Iglesias (FBCB, UNL) / Director.

Dr. Diego G. Arias (FBCB, UNL)

Dr. Carlos M. Figueroa (FBCB, UNL)

Dra. Silvia Moreno (FCEyN, UBA)

Dra. María Pía Valacco (FCEyN, UBA)

Dr. Sebastián Trejo (Universidad Nacional Arturo Jaureche, Florencio Varela)

Dra. María del Rosario Durán Muñoz (Instituto Pasteur Montevideo, Uruguay)

Dr. Carlos Ignacio BatthyányDighiero (Instituto Pasteur Montevideo, Uruguay)

Fecha de dictado: del 19 al 23 de marzo de 2018.

Organización del curso: Consistirá de módulos de clases teóricas, prácticos de componente informático (práctico seco) y prácticos de uso del equipo LC-MALDI-TOF (práctico húmedo). Se admitirán (por razones de infraestructura) tres tipos de alumnos:

- a) los que realicen el curso completo, un número máximo de 12 (6 de Santa Fe y 6 del resto del país); 45 hs – 3 UCAs
- b) los que realicen el cursado teórico y la parte práctica seca (hasta completar un cupo de 25 alumnos); 30 hs - 2 UCAs
- c) los que sólo realicen el cursado teórico (hasta completar un cupo de 40 alumnos); 20hs.

Clases teóricas: Se dictarán todos los días, por la mañana, en el horario de 08:30-12:30 hs. Total 20 horas.

Temario:

Introducción Bioquímica de proteínas. Estructura de proteínas. Modificaciones post-traduccionales.

Electroforesis 2D. Principios y utilización en proteómica. Proteómica cuantitativa por electroforesis 2D-DIGE.

Conceptos básicos de la espectrometría de masas. MALDI-ESI + analizador + detector. Diferentes equipos utilizados (acoplados a HPLC). Identificación de proteínas por MS y MS/MS.

Abordajes y aplicaciones. Muestras simples y complejas. Análisis de complejos proteicos (Xlink). "Targeted vs shotgun". "Top Down vs Bottom up". Proteómica cuantitativa por espectrometría de masas (SILAC-iTRAQ-LFQ). Modificaciones post-traduccionales. MALDI Imaging.

Clases prácticas: Constarán dos instancias: a) actividades de manejo informático (práctico seco); b) actividades de laboratorio y uso del equipo (práctico húmedo).

Práctico seco: Las clases se dictarán todos los días, por la tarde, en el horario de 14:00-16:00 hs. Total 10 horas.

Ejercicios para hacer búsquedas de datos de MALDI-TOF tanto de MS como de MS/MS en Mascot.

Análisis de datos de proteómica cuantitativa de nanoHPLC-ESI-Orbitrap. Se pueden ver con Perseus y analizar en un Volcanoplot

Evaluación de espectros de MS/MS, para identificar iones de series y / b, y cotejado con la predicción in silico.

Ejercicios para el aprendizaje de la distribución isotópica, la masa monoisotópica, y espectros de péptidos con carga +2, +3 o +n. Vista en zoom cómo se distribuyen las formas isotópicas y deducción de la carga de un péptido.

Práctico húmedo: Las clases se dictarán todos los días, por la tarde, en el horario de 16:00-19:00 hs. Total 15 horas.

Análisis de la masa intacta de proteínas por MALDI-TOF.

Corrida de proteínas en un gel 1D SDS, teñido con Coomassie coloidal, corte de las bandas, digestión con tripsina y análisis de cada digesto por separado en el equipo.

Digestión de una mezcla de proteínas con tripsina, separación de los péptidos por HPLC y análisis de cada fracción por el MALDI-TOF. Análisis por MS/MS de varios péptidos.



Requisitos de admisión

Graduado universitario en carreras de Bioquímica, Biotecnología, Biología, Química o similares.

Modalidad del dictado

Presencial

Sistema de evaluación

Evaluación del desempeño de los alumnos a nivel teórico y práctico y realización de un informe que deberán enviar luego de concluido el curso, el que consistirá en lo realizado en forma práctica durante el desarrollo del mismo.

A los alumnos que sólo asistan a las clases teóricas se los evaluará mediante un cuestionario que se les enviará por correo electrónico para que respondan mediante la misma vía.

Bibliografía

- Quantitative Proteomics by Mass Spectrometry, Second Edition. 2016. Editor: Salvatore Sechi. Springer, New York.
- Rebekah L. Gundry, Melanie Y. White, Christopher I. Murray, Lesley A. Kane, Qin Fu, Brian A. Stanley, Jennifer E. Van Eyk. Preparation of Proteins and Peptides for Mass Spectrometry Analysis in a Bottom-Up Proteomics Workflow. CurrProtocMol Biol. 2009 October; CHAPTER: Unit10.25. doi:10.1002/0471142727.mb1025s88.
- Plant Phosphoproteomics: Methods and Protocols. 2015. Editor: Waltraud X. Schulze. Springer, New York.
- Redox Proteomics. From Protein Modification to Cellular Dysfunction and Diseases. 2006. Editores: Isabella Dalle-Donne, Andrea Scaloni y D. Allan Butterfield. John Wiley & Sons, Hoboken.
- 2-D Electrophoresis: Principles and methods. Handbook from GE Healthcare Life Sciences. Disponible en: <http://www.gelifesciences.com/>
- Imaging: Principles and methods. Handbook from GE Healthcare Life Sciences. Disponible en: <http://www.gelifesciences.com/>