

Nombre de la asignatura: PROTEÓMICA

Total de Créditos ECTS: 4

Tipo de Asignatura: Específica del perfil en investigación básica

Nombre del Profesor responsable (indicar adscripción)*:

Prof. Dr. José Antonio Bárcena Ruiz, Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, UCO. Créditos 1,5.

Profesores participantes (indicar adscripción)¹:

1.- Dr. Manuel José Rodríguez Ortega, Contratado Ramón y Cajal, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Créditos 2,5.

Profesores colaboradores invitados (indicar adscripción):

1.- Dr. Samuel Ogueta Villarreal, Servicio de Proteómica del SCAI, UCO.

2.- Dra. Consuelo Gómez Díaz, Servicio de Proteómica del SCAI, UCO.

3.- Dr. Jesús Vázquez, Centro Biología Molecular Severo Ochoa, CSIC, Universidad Autónoma, Madrid.

4.- Dr. Antonio Romero Ruiz, Hospital Virgen del Rocío, Sevilla.

5.- Dr. Antonio Rodríguez Ariza, Unidad de Investigación, Hospital Reina Sofía, Córdoba.

Competencias y objetivos del aprendizaje.

Objetivos generales

- Conocer los principales aspectos teóricos y prácticos de la Proteómica.
- Entender las distintas aproximaciones Proteómicas al estudio de los procesos biológicos.
- Percibir el alcance de las aplicaciones biotecnológicas de esta metodología.

Objetivos concretos

- Aprender a manipular muestras biológicas para estudios Proteómicos.
- Comprender los fundamentos de las técnicas preparativas de separación de proteínas empleadas en Proteómica.
- Comprender los aspectos prácticos de la electroforesis bidimensional de proteínas para estudios de Proteómica de expresión diferencial.
- Manejo práctico de programas de análisis de imagen para estudio de geles bidimensionales.
- Conocer los fundamentos y variantes de la espectrometría de masas aplicada al estudio de las proteínas.

* Indicar asignación de ECTS a cada profesor.

- Preparar y analizar muestras mediante espectrometría de masas MALDI-TOF/TOF y LC-ESI-MS/MS para identificación de proteínas.
- Aprender a interpretar datos de espectrometría de masas de péptidos y utilizar motores de búsqueda conociendo las posibilidades y las limitaciones.
- Comprender las estrategias experimentales más adecuadas para cada tipo de estudio proteómico.

COMPETENCIAS Y OBJETIVOS DEL APRENDIZAJE

Específicas:

- Capacidad de diseñar experimentos en cada campo de las Biociencias con el fin de aprovechar las posibilidades que ofrece la Proteómica para dar respuestas a los problemas biológicos.
- Conocimiento de todos aspectos experimentales que conducen a la identificación del proteoma: Fraccionamientos electroforéticos y cromatográficos; espectrometría de masas de mezclas peptídicas; herramientas bioinformáticas.
- Conocimiento de las limitaciones de la información proporcionada por un análisis proteómico.
- Capacidad para interpretar y ampliar la información estándar de un análisis de espectrometría de masas de péptidos por huella peptídica y por fragmentación.

Transversales:

- De tipo Bioinformático: desarrollar habilidades bioinformáticas: conocer y utilizar la base de datos PDB.; Capacidad para hacer anotaciones funcionales sobre proteínas de función desconocida depositadas en las bases de datos.
- De tipo experimental: familiarización con el nuevo concepto de Biología de Sistemas.
- Descubrimiento de Biomarcadores.

Programa resumido de la asignatura (indicar parte teórica y práctica):

Programa teórico (1,5 ECTS):

1. Proteómica: concepto, estrategias y aplicaciones.
2. Separación y fraccionamiento de proteínas para análisis proteómicos de expresión diferencial: Electroforesis bidimensional. Ventajas y limitaciones.
3. Introducción al análisis y caracterización de proteínas mediante espectrometría de masas: Estrategias; Métodos de ionización; Espectrometría de masas en tándem y secuenciación de péptidos.
4. Modificaciones postraduccionales.
5. Interacciones proteína-proteína.
6. Aproximación proteómica para el desarrollo de vacunas. Genómica versus Proteómica.
7. Retos de la Proteómica: Proteómica cuantitativa y cromatografía versus electroforesis.
8. Proteómica de expresión diferencial mediante 2D-DIGE.
9. Bioinformática aplicada a la Proteómica.

Programa práctico (2,5 ECTS):

- Realización de una electroforesis bidimensional de dos muestras biológicas comparables:
 1. (Individual) Isoelectroenfoque (IEF).
 2. (Individual) 2ª dimensión; fijación y tinción.
- Análisis de imágenes de los geles bidimensionales mediante aplicaciones informáticas apropiadas:
 3. (En grupo de 12) Escaneo del gel e introducción al análisis de imagen.
 4. (Individual) Utilización del software PDQuest para el análisis de los geles y selección de manchas diferenciales.
- Extracción y digestión con tripsina de manchas proteicas diferenciales seleccionadas del gel de electroforesis 2D:
 5. (Grupos de 6) Picado y digestión.
- Obtención de las “huellas peptídicas” por MS mediante MALDI-TOF:
 6. (En grupos de 6) Colocación en placa y disparo en el espectrómetro. Identificación de proteínas a partir de su huella peptídica mediante consulta en bases de datos proteicas, con el empleo de algoritmos específicos.
- Confirmación de la identificación por fragmentación de 3 péptidos por MALDI-TOF/TOF y mediante ESI-MS/MS en trampa iónica lineal:
 7. (En grupos de 6) fragmentación; inyección en el espectrómetro trampa lineal
- Análisis y discusión de los resultados individuales (En el aula):
 8. (En un único grupo)

Metodología*:

Aproximaciones metodológicas.

El contenido de la parte teórica se impartirá en el aula mediante clases magistrales de 90 minutos de duración, en las que se delinearán los diferentes temas haciendo hincapié en los conceptos esenciales ilustrados mediante la descripción de casos modelo. Los estudiantes completarán estas clases con la consulta en la bibliografía recomendada para cada tema en particular. Los alumnos dispondrán de antemano de copias del material audiovisual de cada clase o tema.

Las clases prácticas se impartirán en tres sitios:

- 1) Individualmente en el laboratorio de prácticas del segundo ciclo del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular en el edificio Severo Ochoa.
- 2) En grupos de un máximo de 6 alumnos, en el laboratorio de proteómica usando los analizadores de masas.
- 3) Una sesión inicial en grupos de 12 alumnos y luego individualmente, en sala de informática para manejo de software específico y simulaciones.

* Indicar tipo de actividades presenciales y no presenciales, teóricas y prácticas, seminarios, etc. y la asignación de ECTS a cada tipo de actividad.

Distribución, temporalización y planificación.

Distribución ECTS de la Asignatura Proteómica								
(*) 1 ECTS = 25 horas trabajo. (b) Estimación de estudio personal del alumno durante el curso 12 (trimestral) o 36 (anual) semanas: 1,5 horas de estudio por cada hora de teoría y 0,75 horas de estudio por cada hora de prácticas. (c) Las tutorías se encuentran incluidas en el total de Actividades Académicamente Dirigidas.								
Actividad Docente	Materia	Actividad		Evaluación		Horas presenciales	Horas no presenciales	Horas ECTS ^a
		Profesor	Alumno	Procedimiento	Peso en la nota final			
Clases en aula	Teoría	Exposición de la Teoría. Apoyo con audiovisuales	Tomar apuntes, copiar el material audiovisual	Varias preguntas cortas y una larga. Se valorará razonamiento y capacidad de síntesis	40 %	12 h	24 h ^b	36 h
Actividades dirigidas ^c	Resultados de prácticas	Interpretación de espectros y criterios de búsqueda en bases de datos	Exposición y discusión en grupo de los resultados individuales. Identificar sin ambigüedad las proteínas diferenciales	No evaluable		4 h	4 h	8 h
Clases en laboratorio	Prácticas de laboratorio	Preparación del material para cada grupo y alumno. Explicación y supervisión continua.	Cuaderno de laboratorio, anotaciones, experimentos, informe, etc.	Evaluación continuada, cuaderno, resultados, informes, actitud	50%	16 h	20 h	36 h
Tutorías	Teoría, prácticas y actividades dirigidas	Orientación del alumno, seguimiento y resolución de dudas	Planteamiento de preguntas y dudas	No evaluable		2	0	2
Exámenes	Teoría	Poner, atender y corregir el examen. Calificar globalmente al alumno	Preparación de examen (32 horas) Realización de examen (2 horas)			2 h	16	18 h
TOTAL CARGA DOCENTE DEL ALUMNO					90 %	36 h	64 h	100 h

Competencias a adquirir en actividades de carácter presencial.

Al final del curso los estudiantes deben ser capaces de:

Realizar una separación de proteínas por electroforesis 2D e interpretar los resultados.

Evaluar la idoneidad de cada tipo de método de preparación de proteínas para análisis proteómico.

Interpretar un análisis de huella peptídica y de fragmentación de péptidos para la identificación de proteínas y evaluar su validez.

Decisión del tipo de aproximación proteómica adecuado para cada objetivo científico.

Utilizar las bases de datos de acceso libre en Internet para recabar información estructural y funcional sobre proteínas.

Otras actividades académicas dirigidas.

Asistencia a seminarios o conferencias relacionados con la temática del curso.
Elaboración de un informe de valoración personal sobre cada seminario.

Técnicas de evaluación.

Examen final sobre la parte teórica: 40%.

Presentación y en su caso, exposición oral, del informe práctico: 50%

El progreso, implicación y aprovechamiento de cada estudiante se seguirá en cada sesión teórica y práctica mediante preguntas durante el desarrollo de las mismas:

Informes sobre los seminarios y conferencias a los que asista: 10%.

Bibliografía.

Libros o revisiones generales:

PENNINGTON AND DUNN (2000). Proteomics. From protein sequence to function. BIOS Scientific.

LIEBLER, D.C. (2002) Introduction to proteomics: tools for the new Biology. Humana Press.

O'CONNOR, DC (2006) Proteomics. Scion Publishers.

WESTERMEIER R, NAVEN T (2002) Proteomics in Practice. A Laboratory manual of Proteome Analysis. Wiley-VCH, Darmstadt, Germany.

VARIOS AUTORES (2003) Proteomics. Nature, 422 (6928):191-237.

STEEN, H & MANN, M (2004) The ABC's (and XYZ's) of peptide sequencing. Nature Reviews, 5:699-711.

JENSEN, ON (2006) Interpreting the protein language using proteomics. Nat Rev Mol Cell Biol vol. 7 pp. 391-403.

Bibliografía específica:

Se proporcionará bibliografía actualizada y específica junto con el material didáctico de cada tema.

Tabla 1: Resumen de distribución de horas por las distintas actividades.

Distribución horas en créditos ECTS (1 crédito = 25 horas).	Horas Presenciales (Teoría y Práctica)	Otras= tutorías, exámenes, horas no presenciales de estudio, actividades dirigidas, aula virtual.	Total horas
Clases teóricas	12		12
Prácticas	16		16
Seminarios	4	4	8
Tutorías		2	2
Examen	2		2
Actividades dirigidas y aula virtual		12	12
Horas estudio de teoría		24	24
Horas estudio de prácticas		24	24
TOTAL	36	64	100