

La Proteómica puede ser definida como el conjunto de técnicas o tecnologías encaminadas a la obtención de información funcional de todas las proteínas, y tiene por objeto el análisis, identificación y caracterización del proteoma celular. Podemos definir el proteoma como el conjunto de proteínas presentes en una célula, tejido u órgano, en un estado de diferenciación y/o desarrollo y en condiciones ambientales determinadas. A diferencia del genoma, el proteoma de un organismo es dinámico, con cambios espacio-temporales a lo largo de su ciclo vital.

La Proteómica permite determinar la estructura, actividad biológica, modo de acción, localización celular, modificaciones postraduccionales de proteínas y la interacción con otras proteínas o moléculas.

Las técnicas proteómicas usadas actualmente las podemos separar en tres bloques:

- Métodos de obtención y separación de extractos proteicos, de los que depende en gran medida el éxito de un estudio proteómico. La obtención de un buen extracto proteico suele ser bastante complejo y dependiente del tipo de material de partida. Los métodos de separación de proteínas más empleados son la electroforesis bidimensional (IEF+SDS-PAGE) y la cromatografía líquida.
- Espectrometría de masas (MS) adecuada al estudio de las proteínas. En Proteómica se emplea esta técnica analítica para la identificación y caracterización de proteínas separadas previamente y para el análisis de mezclas complejas de proteínas. En el primer caso, las proteínas se digieren con tripsina y el digerido se aplica sobre la placa de MALDI. Los espectros se adquieren mediante espectrometría de masas tipo MALDI-TOF/TOF y la identificación se lleva a cabo por huella peptídica-MS/MS y búsqueda en bases de datos.
En el caso de mezclas complejas de proteínas (identificación masiva), los péptidos obtenidos tras la digestión son separados por nano- cromatografía en 1 ó 2 dimensiones (fase reversa o intercambio iónico seguido de fase reversa respectivamente) y a continuación, analizados por espectrometría de masas (LC MS-MS). Esto permite obtener una colección amplia de espectros MS/MS con los que podemos identificar sus proteínas con la ayuda de algoritmos de búsqueda específicos (MASCOT, SEQUEST, PARAGON, XTAMDEM, OMMSA, etc).
- Bioinformática. La disponibilidad de bases de datos de secuencias de genes y de proteínas es crucial para el avance de la proteómica. Por otro lado, es necesario completar la anotación del proteoma, esto es, la asignación de función/es a cada proteína identificada creando bases de datos a partir de resultados experimentales. Es la Bioinformática la que tendrá que desarrollar algoritmos matemáticos para extraer información sobre las funciones proteicas y celulares a partir de esos datos.

Actualmente, la espectrometría de masas acoplada a nano-cromatografía líquida se ha convertido el método de análisis de proteínas por excelencia. En esta línea, se vienen usando un número considerable de aproximaciones técnicas proteómicas de alto rendimiento tales como el “shotgun”, el uso de marcaje isotópico (iTRAQ, TMT, iCAT, SILAC) y métodos de “label free”, los cuales usan datos de espectros adquiridos por CID, fundamentalmente, que derivan en la identificación de una lista péptidos y sus correspondientes proteínas. Por otra parte los métodos de Proteómica dirigida como “Selected/Multiplex Reaction Monitoring (SRM/MRM)”, Paralell Reaction Monitoring (PRM), métodos de adquisición de dato-independiente (DIA/SWATH) y métodos de Proteómica dirigida en MS1 dato-dependiente se han convertido en herramientas muy potentes para la cuantificación, descubrimiento y validación de biomarcadores, en rangos de límites de detección entre pico y attomolar. Todo ello en conjunción con la bioinformática, que permite el manejo de secuencias de genoma y/o transcriptoma y bases de datos para identificación y análisis de proteínas en cualquier tipo de organismo, para así obtener resultados que se integren dentro de la biología de sistemas.

El enorme potencial de la Proteómica en actividades de I+D+i en la actualidad es innegable. Desde la unidad de Proteómica de la UCO, a través de métodos de obtención y separación de extractos proteicos, técnicas de espectrometría de masas y herramientas bioinformáticas ofrecemos un servicio integral a investigadores y empresas para los cuales las proteínas juegan un papel clave en la obtención de sus resultados y ejecución de sus procesos.