

Este programa está bajo la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial 3.0 CC BY-NC 3.0.
Se le atribuye a Antonia García como editora.

QUÍMICA ANALÍTICA AVANZADA EN CIENCIAS DE LA VIDA

GUÍA DE LA ASIGNATURA

3 ECTS

30 horas presenciales

- Curso/Asignatura: Química Analítica Avanzada en Ciencias de la Vida
- 2º Semestre
- Postgraduados
- Modalidad *Curso Presencial*
- Prerequisitos: Graduado en Química o Equivalente
- Area de Conocimiento: Química Analítica

DESCRIPCIÓN DEL CURSO

La metabolómica, la proteómica y la lipidómica son todas disciplinas “ómicas” pero con diferentes requisitos, así como flujo de trabajo y tipo de información proporcionada. El objetivo de este curso es ofrecer a estudiantes graduados conocimientos de todas ellas, e identificar el potencial valor de la información obtenida de aplicación en el área de las ciencias de la vida. Para ello, en primer lugar, el curso cubrirá los aspectos principales de la espectrometría de masas molecular, incluyendo las innovaciones más recientes en el diseño de equipos, con sus ventajas y desventajas, así como el detalle de los procesos de espectrometría de masas de utilidad en la elucidación estructural. En segundo lugar, tratará los fundamentos de las técnicas de separación de alta eficacia acopladas a la espectrometría de masas, mecanismos de separación, instrumentación, tratamiento de muestra y aplicaciones.

Por último, el curso abarcará los tipos de estudios de metabolómica, proteómica y lipidómica basados en las diferentes aproximaciones. Se describirán estrategias de procesamiento de datos, las etapas en el análisis ómico y se evaluará sus fortalezas y debilidades desde una perspectiva crítica a través del estudio de una selección de artículos científicos previamente publicados. Además, se describirán diversos recursos de bioinformática de uso actual.

1. Espectrometría de Masas. Clases teóricas 7h

- 1.1. Introducción y conceptos generales sobre espectrometría de masas MS
- 1.2. Instrumentación: fuentes, analizadores y detectores

- 1.3. Espectrometría de masas en Tándem
- 1.4. Acoplamiento de técnicas a MS
- 1.5. Elucidación estructural. Fundamentos de la fragmentación de moléculas orgánicas.

2. Técnicas de separación acopladas a la espectrometría de masas. Clases teóricas 3h

2.1. LC-MS

- 2.1.1. Conceptos esenciales sobre LC-MS
- 2.1.2. Mecanismos de separación. Principios esenciales de RP-LC & HILIC. Nano LC.
- 2.1.3. Instrumentación en (U)HPLC
- 2.1.4. Optimización de las separaciones en LC-MS

2.2. GC-MS

- 2.2.1. Conceptos básicos en GC-MS. Índice de retención
- 2.2.2. Instrumentación en GC-MS. Bloqueo de tiempos de retención.
- 2.2.3. Cromatografía de gases bidimensional
- 2.3.4. Pretratamiento de muestra. Derivatización

2.3. CE-MS

- 2.3.1. Conceptos generales en CE-MS
- 2.3.2. Mecanismos de separación. Principios básicos de CZE & MEKC
- 2.3.3. Instrumentación en CE-MS

3. Proteómica + Metabolómica + Lipidómica. Clases teóricas 15h (5h +5h +5h)

METABOLOMICA: 5h

- 3.1. Introducción a la metabolómica. Conceptos básicos.
- 3.2. El proceso analítico en metabolómica
- 3.3. Diseño experimental
- 3.4. Control de calidad y aseguramiento de la calidad en metabolómica
- 3.5. Procesado de datos, reprocesado, alineamiento, normalización, escalado, filtrado. Análisis estadístico.
- 3.6. Identificación. Bases de datos. Confirmación.
- 3.7. De la identificación de datos a las rutas metabólicas
- 3.8. Validación de marcadores
- 3.9. Aplicaciones clínicas y bioquímicas

LIPIDOMICA: 5h

- 4.4.1. Introducción a la lipidómica
- 4.2. Aproximaciones analíticas en lipidómica
 - 4.2.1. Diseño experimental
 - 4.2.2. Preparación de la muestra
 - 4.2.3. Perfil dirigido de lípidos según su clases
 - 4.2.4. Identificación de lípidos basada en MS: conceptos

- 4.3. Procesado de datos e identificación de lípidos
 - 4.3.1. Lipidómica dirigida y no dirigida
 - 4.3.2. Herramientas bioinformáticas en lipidómica
- 4.4. Análisis de datos
 - 4.4.1. De la identificación de datos a las rutas metabólicas
 - 4.4.2. Interpretación funcional de los resultados

PROTEOMICA: 5h

- 5.1. Introducción a la proteómica
 - 5.1.1. Detección y cuantificación de niveles de proteína
 - 5.1.2. Detección y cuantificación de modificaciones proteicas
 - 5.1.3. Detección y cuantificación de localización proteica subcelular
 - 5.1.4. Detección y cuantificación de interacciones proteicas
- 5.2. Aproximaciones analíticas en proteómica
 - 5.2.1. Diseño experimental
 - 5.2.2. Preparación de muestra
 - 5.2.3. Identificación de proteínas basada en MS: conceptos
 - 5.2.4. Aproximaciones proteómicas en la identificación de proteínas
 - 5.2.5. Técnicas para identificación de proteínas: PMF y PFF
 - 5.2.6. Proteómica cuantitativa
 - 5.2.7. Nuevas tecnologías
- 5.3. Procesado de datos e identificación de proteínas
 - 5.3.1. Bases de datos de secuencias proteicas
 - 5.3.2. Máquinas de búsqueda
- 5.4 Análisis de datos
 - 5.4.1. De la identificación de proteínas a las rutas metabólicas
 - 5.4.2. Interpretación funcional de los resultados

Clases prácticas: 5h

2 Aproximaciones: dirigida y no dirigida. Muestras: células de mamíferos

a) Proteómica con herramientas disponibles online gratuitas

- i) Generación de base de datos FASTA con Uniprot (SwissProt)
- ii) Transformación de datos a mzML con MSConverter y el asistente ProteoWizard
- iii) Máquinas de búsqueda: OMSSA y X!Tandem con SearchGUI
- iv) Generación y evaluación de resultados: PeptideShaker para visualización de péptidos y proteínas. Análisis de modificaciones PTM

b) Metabolómica con herramientas disponibles online gratuitas

Preprocesado de datos en LC-MS y GC-MS:

workflow4metabolomics: Análisis de datos de metabolómica

- i)Preprocesado
- ii)Estadística
- iii)Identificación



OBJETIVOS DE APRENDIZAJE:

Tras terminar el curso, el estudiante debe ser capaz de:

1. Revisión crítica de los analizadores de masas y fuentes de ionización disponibles, conociendo sus ventajas y desventajas, incluyendo los modos de trabajo en análisis en MS en tándem
2. Reconocer modelos de fragmentación de moléculas orgánicas principalmente de metabolitos pequeños, proteínas y lípidos.
3. Discutir ampliamente los diferentes mecanismos de separación acoplados a MS en metabolómica, proteómica y lipidómica.
4. Conocer y entender los diferentes métodos de tratamiento de muestra y sus limitaciones.
5. Identificar todas las etapas del estudio y sus diferentes enfoques o aproximaciones
6. Discutir el uso de software público en el reprocesado de datos y análisis de rutas metabólicas
7. Adquisición de habilidades básicas en el uso de bases de datos útiles como recursos de acceso gratuito
8. Explicar a personas no especialistas la forma en que estas tres disciplinas “ómicas” pueden proporcionar información de valor en las diferentes áreas de las Ciencias de la Vida.

ACTIVIDADES FORMATIVAS:

- Seminarios y talleres: 25h
- Clases prácticas: 5h
- Aprendizaje autónomo del alumno: 60h
- Esfuerzo total del estudiante: 90h

EVALUACIÓN DEL APRENDIZAJE:

ASISTENCIA A CLASE

- Para poder acogerse al sistema de evaluación continua es precisa la asistencia al 75% de las clases de teoría (se realizarán controles de asistencia). Ya que el alumno puede faltar el 25% del total de las clases, no se admitirán justificaciones de ausencia.
- La asistencia a las clases prácticas es obligatoria en un 100%.

CRITERIOS DE EVALUACIÓN

- Al final del curso: Evaluación de la exposición oral pública de un tema seleccionado y de la memoria entregada. 45% y 45 % respectivamente
- Clases practicas: 10%

REFERENCIAS:

1. Gary L. Glish, Richard W. Vachet. The basics of mass spectrometry in the twenty-first century. *Nature Reviews Drug Discovery* (2003) 2, 140-150.
2. Fred W. McLafferty. A Century of Progress in Molecular Mass Spectrometry. *Annual Reviews of Analytical Chemistry* (2011) 4, 1–22.
3. James J Pitt. Principles and Applications of Liquid Chromatography-Mass Spectrometry in Clinical Biochemistry . *Clinical Biochemistry Reviews* (2009) 30, 19-34.
4. Annalaura Mastrangelo, Alessia Ferrarini, Fernanda Rey-Stolle, Antonia Garcia, Coral Barbas. From sample treatment to biomarker discovery: A tutorial for untargeted metabolomics based on GC-(EI)-Q-MS. *Analytica Chimica Acta*. (2015) 900, 21-35.
5. Antonia Garcia, Shama Naz, Coral Barbas. Metabolite fingerprinting by capillary electrophoresis-mass spectrometry. *Methods Mol Biol* (2014) 1198, 107-223.
6. Shama Naz, Antonia Garcia, Magdalena Rusak, Coral Barbas. Method development and validation for rat serum fingerprinting with CE-MS: application to ventilator-induced-lung-injury study (2013), 405(14) 4849-4858.