



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
NÚCLEO DE PESQUISAS EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE DISCIPLINA

Nome Fundamentos em Proteômica	Código NUP-392
Nome em Inglês Fundamentals in proteomics	Carga Horária 60 hrs
Nome em Espanhol Fundamentos de proteómica	Créditos 04

Ementa

O curso tem como objetivo fornecer ao aluno de pós-graduação conceitos fundamentais e as aplicações mais atuais no campo de investigação em proteínas. Situado no contexto da pós-genômica, a disciplina permitirá ao aluno a familiarização com etapas essenciais para análises de proteínas, incluindo preparação e processamento de amostras, investigação do proteoma por géis 1-DE e 2-DE (uni e bi-dimensionais), métodos de coloração, digestão em gel e em solução, purificação e separação de peptídeos por cromatografia, métodos de ionização aplicados aos peptídeos (“Electrospray” e “MALDI - Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization”), busca de identidade em bancos de dados e interpretação de espectros a partir de dados de fragmentação de peptídeos (“DE NOVO sequencing”).

O curso será ministrado através de aulas teóricas, seminários e aulas práticas obedecendo à seguinte disposição:

Tópicos Teóricos e Seminários:

1. Preparação e processamento de amostras para análise proteômica;
2. Análise do proteoma por géis 1-DE e 2-DE;
3. Métodos de coloração de proteínas em gel – vantagens e desvantagens;
4. Métodos de digestão de proteínas em gel e em solução;
5. Purificação e separação de peptídeos por cromatografia;
6. Métodos de ionização aplicados a peptídeos - Electrospray e MALDI;
7. Database searching – busca de identidade a partir de dados: Peptide Mass Fingerprinting e fragmentação (MS2);
8. Interpretação de espectros de fragmentação de peptídeos – DE NOVO sequencing.

Tópicos práticos:

1. Confecção de géis de poliacrilamida/bis para separação de amostras protéicas;
2. Digestão em gel;
3. Identificação de proteínas através da combinação espectrômetro de massas e database searching.

Ementa em Inglês

The course aims to provide the graduate student with fundamental concepts and the most current applications in the field of protein research. Set in the context of post-genomics, the course will allow the student to become familiarized with essential steps for protein analysis, including sample preparation and processing, proteome investigation by 1-DE and 2-DE (one and two-dimensional) gels. staining methods, gel and solution digestion, purification and separation of peptides by chromatography, ionization methods applied to peptides (Electrospray and MALDI - Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization), search for identity in databases and interpretation of spectra from peptide fragmentation data (DE NOVO sequencing).

The course will be taught through seminars and theoretical and practical classes according to the following provision:

Theoretical Topics and Seminars:

1. Preparation and processing of samples for proteomic analysis;
2. Proteome analysis by 1-DE and 2-DE gels;
3. Protein gel staining methods – advantages and disadvantages;
4. Methods of digestion of proteins in gel and in solution;
5. Purification and separation of peptides by chromatography;
6. Ionization methods applied to peptides - Electrospray and MALDI;
7. Database searching – identity search from data: Peptide Mass Fingerprinting and Fragmentation (MS2);
8. Interpretation of peptide fragmentation spectra – DE NOVO sequencing.

Practical topics:

1. Production of polyacrylamide/bis gels for separating protein samples;
2. In gel digestion;
3. Protein identification through a combination of mass spectrometers and database searching.

Ementa em Espanhol

El curso tiene como objetivo proporcionar al estudiante de posgrado los conceptos fundamentales y las aplicaciones más actuales en el campo de la investigación de proteínas. Ubicado en el contexto de la posgenómica, el curso permitirá al estudiante familiarizarse con los pasos esenciales para el análisis de proteínas, incluida la preparación y el procesamiento de muestras, la investigación de proteomas mediante geles 1-DE y 2-DE (unidimensionales y bidimensionales). métodos de tinción, digestión en gel y solución, purificación y separación de péptidos por cromatografía, métodos de ionización aplicados a péptidos (Electrospray y MALDI - Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization), búsqueda de identidad en bases de datos e interpretación de espectros a partir de datos de fragmentación de péptidos (DE NOVO sequencing).

El curso se impartirá a través de seminarios y clases teóricas y prácticas de acuerdo con la siguiente disposición:

Temas teóricos y seminarios:

1. Preparación y procesamiento de muestras para análisis proteómico;
2. Análisis de proteomas mediante geles 1-DE y 2-DE;
3. Métodos de tinción de gel de proteínas: ventajas y desventajas;

4. Métodos de digestión de proteínas en gel y en solución;
5. Purificación y separación de péptidos por cromatografía;
6. Métodos de ionización aplicados a péptidos - Electrospray and MALDI;
7. Database searching - búsqueda de identidad a partir de datos: Peptide Mass Fingerprinting e fragmentación (MS2);
8. Interpretación de espectros de fragmentación de péptidos - DE NOVO sequencing.

Temas prácticos:

1. Producción de geles de poliacrilamida / bis para separar muestras de proteínas;
2. Digestión en gel;
3. Identificación de proteínas mediante una combinación de espectrómetros de masas y búsqueda en bases de datos.

Bibliografía

- BODZON-KULAKOWSKA, A., A. BIERCZYNSKA-KRZYSIK, T. DYLAG, A. DRABIK, P. SUDER et al., 2007 Methods for samples preparation in proteomic research. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 849: 1-31.
- CHOUDHARY, C. and M. MANN, 2010 Decoding signalling networks by mass spectrometry-based proteomics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 11: 427-439.
- CORTHALS, G. L., V. C. WASINGER, D. F. HOCHSTRASSER and J. C. SANCHEZ, 2000 The dynamic range of protein expression: a challenge for proteomic research. *Electrophoresis* 21: 1104-1115.
- MILLER, I., J. CRAWFORD and E. GIANAZZA, 2006 Protein stains for proteomic applications: which, when, why? *Proteomics* 6: 5385-5408.
- ROEPSTORFF, P., 1998 Protein sequencing or genome sequencing. Where does mass spectrometry fit into the picture? *J Protein Chem* 17: 542-543.
- ROSENFELD, J., J. CAPDEVIELLE, J. C. GUILLEMOT and P. FERRARA, 1992 In-gel digestion of proteins for internal sequence analysis after one- or two-dimensional gel electrophoresis. *Anal Biochem* 203: 173-179.
- STANDING, K. G., 2003 Peptide and protein de novo sequencing by mass spectrometry. *Curr Opin Struct Biol* 13: 595-601.
- STASYK, T., and L. A. HUBER, 2004 Zooming in: fractionation strategies in proteomics. *Proteomics* 4: 3704-3716.
- STEEN, H., and M. MANN, 2004 The ABC's (and XYZ's) of peptide sequencing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 5: 699-711.
- WESTERMEIER, R., 2006 Sensitive, quantitative, and fast modifications for Coomassie Blue staining of polyacrylamide gels. *Proteomics* 6 Suppl 2: 61-64.
- WU, C. C., and J. R. YATES, 3RD, 2003 The application of mass spectrometry to membrane proteomics. *Nat Biotechnol* 21: 262-267.
- ZIADY, A. G., and M. KINTER, 2009 Protein sequencing with tandem mass spectrometry. *Methods Mol Biol* 544: 325-341.
- MOREIRA, L. M., 2015. Ciências genômicas: fundamentos e aplicações. Capítulo: Análise proteômica: princípios e aplicações. 1ed.: Cubo, v. 1, p. 183-198.

