



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR



PROGRAMA DE DISCIPLINA

CÓDIGO:			
DISCIPLINA:	ANÁLISES PROTEÔMICAS POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS		
PRÉ-REQUISITOS:			
CARGA HORÁRIA	TEÓRICA: 60	PRÁTICA: 0	TOTAL: 60
CRÉDITO:	TEÓRICA: 4	PRÁTICA: 0	TOTAL: 4
PROFESSOR (A):	MONALIZA MACEDO; NAYARA ALMEIDA; KEILANE SILVA FARIAS.		
EMENTA:	Conceitos básicos teóricos de proteômica, cromatografia líquida e espectrometria de massa (tipos de ionização, analisadores, detectores e equipamentos), preparo de amostras proteicas e prática em análise de dados (identificação de peptídeos / proteínas a partir de espectros de massas), bem como interpretação dos resultados proteômicos e das plataformas utilizadas. Também serão apresentadas as aplicações no tangente à proteômica e os alunos terão a oportunidade de conhecer o espectrômetro de massas instalado na Centro de Biotecnologia e Genética da Universidade Estadual de Santa Cruz.		
OBJETIVO GERAL:	Capacitar os alunos a planejar, executar e interpretar experimentos proteômicos baseados em espectrometria de massas, desde o preparo da amostra até a análise bioinformática dos dados gerados.		
OBJETIVOS:	1. Compreender os princípios físicos da espectrometria de massas e as principais estratégias proteômicas; 2. Planejar e executar protocolos de preparo de amostras e avaliar a qualidade da separação cromatográfica; 3. Operar o LC-Q-TOF 6545 Agilent aplicando critérios de confiabilidade na aquisição e quantificação de dados; 4. Utilizar softwares proteômicos para identificação e anotação funcional de proteínas em bancos de dados especializados; 5. Interpretar estatisticamente dados proteômicos e correlacioná-los com outras plataformas ômicas; 6. Integrar resultados proteômicos com técnicas analíticas complementares para interpretação biológica e produção científica.		
METODOLOGIA:	A disciplina será desenvolvida de forma integrada entre teoria e prática aplicada, estruturada nas seguintes estratégias: aulas expositivas e dialogadas com uso de recursos audiovisuais; análise dos dados proteômicos; atividades, discussão e análise crítica de artigos científicos atuais da área de proteômica; estudos de casos reais envolvendo proteômica de plantas, fungos e microrganismos de interesse agrícola; seminários apresentados e relatórios.		
AValiação:	A verificação da aprendizagem (avaliação) será realizada desdobrando-se os objetivos em questões que abranjam o conteúdo ministrado e que permitam ao aluno colocar em prática o que aprendeu. Os instrumentos de avaliação constarão de: provas escritas individuais; seminários; exercícios teóricos e práticos; relatórios; e participação nas discussões e autoavaliação.		
CONTEÚDO PROGRAMÁTICO:	Os conteúdos serão organizados em três unidades temáticas, a partir dos objetivos da disciplina: Unidade I: Fundamentos em Proteômica 1. Fundamentos de Proteômica • Definição e contexto da proteômica no cenário ômico; • Proteoma vs transcriptoma vs genoma: complementaridade e limitações; • Tipos de proteômica: expressão, estrutural, funcional e interatômica; • Aplicações em plantas, fungos e microrganismos de interesse agrícola. 2. Fundamentos em Espectrometria de Massas • Princípios físicos da espectrometria de massas;		



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR

	• Componentes do espectrômetro: fonte de ionização, analisador de massa e detector; • Analisadores de massa: Quadrupolo, Q-TOF, Orbitrap e ion trap; • Espectros de MS e MS/MS: interpretação e qualidade espectral; • Introdução ao LC-Q-TOF 6545 Agilent; Unidade II: Preparo de Amostras e Análises Proteômicas 3. Preparo de Amostras Biológicas para MS e LC/MS • Extração e quantificação de proteínas totais; • Digestão triptica e preparo de amostras para injeção no LC-MS; • Estratégias de fracionamento proteico; • Dessalinização e concentração das amostras; 4. Cromatografia Acoplada à Espectrometria de Massas • Princípios de Cromatografia; • Relações m/z, massa monoisotópica, massa nominal; • Tipos de Cromatografia: Gasosa (GC) e Líquida (LC) • Fases estacionárias e móveis para a separação de peptídeos; • Fontes de ionização: MALDI, EI, ESI, APCI, modo de ionização e • Deconvolução; • Otimização de gradientes cromatográficos; • Estimativa 2D: cobertura espectral e alinhamento entre corridas; • Estratégias de aquisição dos dados: Top-N, DDA e DIA. Unidade III: Quantificação e Análises 5. Estratégias de Quantificação Proteômica • Fragmentação de peptídeos: series a, b e y, interpretação por • sequenciamento <i>de novo</i>; • Quantificação baseada em gel (2D-DIGE); • Quantificação <i>label-free</i> (LFQ): princípios e limitações; • Métodos com marcação isotópica e isobárica: SILAC, ICAT, iTRAQ; • Critérios de confiabilidade: FDR, número mínimo de peptídeos e coeficiente de variação; • Análise comparativa de dados quantitativos entre amostras; • Aplicação dos critérios de confiabilidade em datasets reais; 6. Bioinformática Aplicada à Proteômica • Análise de dados proteômicos: Spectrum Mill; • Bancos de dados proteicos: UniProt, NCBI e bancos customizados; • Utilização de plataformas computacionais remotas: MASCOT e Peaks; • Softwares de busca: Spectrum Mill, MaxQuant e PEAKS; • Parâmetros de busca: tolerância de massa e modificações; • Anotação funcional e construção de redes: Gene Ontology (GO), KEGG e STRING; Unidade IV: Aplicação dos estudos proteômicos e das técnicas 7. Proteômica Aplicada e Estudos de Casos • Proteômica de interação planta-patógeno; • Análise de secretoma fúngico e proteínas efetoras; • Proteômica aplicada à enxertia e desenvolvimento vegetal; • Estudos de caso: proteômica do cacauero e de fitopatógenos de interesse regional;
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA:	BIBLIOGRAFIA BÁSICA • Aebersold, R. & Mann, M. (2003). Mass spectrometry-based proteomics. <i>Nature</i>, 422, 198–207.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR

- Cox, J. & Mann, M. (2008). MaxQuant enables high peptide identification rates. *Nature Biotechnology*, 26, 1367–1372.
- Gross, Jürgen H. Mass Spectrometry: A Textbook. 201. Springer 2011.
- Hoffmann, Edmond de. Mass spectrometry: principles and applications. ed. Edmond de Hoffmann, Vincent Stroobant. 2008. 3rd.
- Sudhir Srivastava. Informatics in Proteomics. 2005 by Taylor & Francis Group, LLC. 2th Ed.
- Throck Watson and O. David Sparkman. Introduction to mass spectrometry Instrumentation, Applications and Strategies for Data Interpretation. 2007. -- 4th Ed.
- Walther, T.C. & Mann, M. (2010). Mass spectrometry-based proteomics in cell biology. *Journal of Cell Biology*, 190, 491–500.

BIBLIOGRAFIA COMPLEMENTAR

- Duplessis, S. et al. (2011). Obligate biotrophy features unraveled by genomic analysis of rust fungi. *PNAS*, 108, 9166–9171.
- Bantscheff, M. et al. (2007). Quantitative mass spectrometry in proteomics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389, 1017–1031.
- Zhang, Y. et al. (2013). Protein analysis by shotgun proteomics. *Chemical Reviews*, 113, 2343–2394.