

DESCRIPCIÓN GENERAL

El Instituto i+12 cuenta con el apoyo de la Unidad de Proteómica desde el año 2007. Esta Unidad tiene como objetivos principales prestar servicio y apoyo a los investigadores, fomentar la investigación científica y el desarrollo tecnológico continuo en el área de la Proteómica.

La Proteómica proporciona un conjunto de herramientas que permiten el estudio de la patogénesis molecular de enfermedades, así como en la identificación de biomarcadores específicos que permitan diagnosticar, clasificar, pronosticar y predecir enfermedades, definir nuevas dianas terapéuticas o predecir el comportamiento ante fármacos.

CARTERA DE SERVICIOS

La Unidad de Proteómica ofrece a los investigadores diferentes servicios de proteómica así como seminarios y cursos de formación.

El Laboratorio de proteómica ofrece una diversa gama de servicios analíticos de proteínas, y muchos de los mismos requieren la contratación de servicios externos. Además, en su mayoría estos servicios requieren una estrecha interacción técnico-científico con el usuario para determinar la mejor estrategia analítica a utilizar.

La prioridad de los análisis será, en todos los casos, para las muestras enviadas por los grupos de investigación del Instituto y de otras entidades académicas adscritas al mismo. Los análisis solicitados por usuarios externos (otras instituciones de investigación y compañías privadas) estarán sujetos a la evaluación de la Responsable de la Unidad.

La Unidad de Proteómica ofrece apoyo y servicio de las siguientes tecnologías:

1. Separación de proteínas y análisis de expresión diferencial.
 - a. Electroforesis 2D para análisis convencional de mezclas de proteínas en gel.
 - b. Electroforesis 2D para análisis diferencial cuantitativo "Tecnología DIGE".
 - c. Marcaje múltiple isobárico.
2. Identificación de proteínas tanto en gel como en solución.
3. Separación y análisis de Complejos Proteicos en condiciones nativas: BLUE NATIVE. Este análisis se realiza tanto en 1D como en 2D y supone la transferencia de las mismas a membrana o la tinción de los geles para posterior identificación de proteínas.
4. Asistencia teórico-práctica en el diseño particular de cada tipo de inmunoblotting,
5. Análisis de expresión diferencial monodimensional.

— INSTALACIÓN E INFRAESTRUCTURAS

Para el desarrollo de estas técnicas y metodologías, la Unidad de Proteómica cuenta en la actualidad con el siguiente equipamiento de alta tecnología:

Sistema de Electroforesis Bidimensional Ettan™, 2D-PAGE

- Este sistema está formado por la unidad IPGphor™ III, que integra el sistema de isoelectroenfoque para realizar la primera dimensión. Permite la aplicación de tiras de pH inmovilizado usando el soporte de IPGphor™ Manifold, que permite correr simultáneamente hasta 12 tiras. La unidad IPGphor™ III incluye un software de control que genera gráficas donde quedan monitorizados los cambios de voltaje, corriente y voltios-hora que van ocurriendo a lo largo del programa de isoelectroenfoque.
- La unidad de electroforesis DALTsix, donde se va a realizar la segunda dimensión, está formada por una cubeta de electroforesis que permite correr hasta seis geles a la vez, reduciendo por tanto la variabilidad experimental en cada uno de esos geles. Además aporta un soporte de montaje de geles que también está diseñado para polimerizar hasta seis geles a la vez.
- Ambos equipos son estabilizados mediante el sistema MultiTemp™ III (GE Healthcare), que proporciona un control de temperatura fiable y reproducible mediante la circulación de líquidos a temperatura constante a los equipos de electroforesis externos. La generosa capacidad de 200 W de enfriamiento permite que se conecten hasta dos aparatos de electroforesis vertical a la vez para mayor reproducibilidad de los ensayos.

Fraccionador por Isoelectroenfoque en líquido, 3100 OFFGEL (Agilent)

- Isoelectroenfoque en fase líquida preparativo: el fraccionador Offgel Agilent 3100 resuelve mezclas complejas de proteínas o péptidos según su punto isoeléctrico (pI) consiguiendo fraccionamientos de alta resolución. Las fracciones resultantes quedan en solución, lo que hace mucho más fácil su recuperación para el análisis LC/MS o en geles convencionales. Los resultados son altamente reproducibles.

2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies)

- Sistema basado en la electroforesis capilar microfluídica, de tal manera que puede determinar, cuantificar y mostrar la calidad de los extractos proteicos totales.

Equipo para análisis y documentación de geles ImageQuant LAS 4000 (GE Healthcare)

- Sistema de análisis de imágenes automatizado que combina una óptima captura y análisis de imágenes con el software ImageQuantTL. Este sistema utiliza una cámara CCD de 3,2 megapíxeles que permite la captura de imágenes digitales de geles y membranas quimioluminiscentes, teñidos o fluorescentes, con una resolución efectiva de 6,3 megapíxeles.

Equipo para análisis y documentación de geles ChemiDoc MP Imaging System (Bio Rad)

- Fotodocumentador diseñado para cubrir aplicaciones de fluorescencia multiplex, quimioluminiscencia y otras aplicaciones generales de documentación de geles mediante cámara CCD.

Equipo para análisis y documentación de geles Gel DocTM EZ (Bio Rad)

- Sistema de análisis de imágenes compacto y automatizado que combina una óptima captura y análisis de imágenes con el software Image Lab. Permite documentar mini-geles teñidos con colorantes fluorescentes o con colorantes visibles, placas fotográficas y geles libres de tinción (Stain free de Bio-Rad).

ImageScanner III (GE Healthcare)

- Escáner de alta resolución para digitalización y densitometría de los geles con tinciones visibles.

Extractor de ácidos nucleicos Maxwell 16 de Promega

- Extractor de proteínas con colas de polihistidina que permite disminuir el tiempo de purificado de este tipo de proteínas marcadas a la vez que el procesado de un mayor número de muestras.

PERSONAL Y DATOS DE CONTACTO

La responsable de la Unidad es la Dra. Inés García-Consuegra Galiana, Técnico Superior de Apoyo a la Investigación. La Unidad se encuentra ubicada en la Planta 0 del Centro de Investigación del Hospital Universitario 12 de Octubre.

Datos de contacto:

- e-mail: inesgcg@h12o.es
- Teléfono: 91 390 8000/ Ext: 1465
- Fax: 91 390 8455

TARIFAS 2015

Tipo de análisis	Servicio	Tarifas		
		I+12	Centros Públicos	Centros privados
Proteómica diferencial				
Electroforesis 1D				
Minigel PAGE-SDS	Minigel PAGE-SDS	20 €	30 €	60 €
Gel PAGE-SDS	Gel Criterion, Gel PAGE-SDS 14x16, 16x20	30 €	45 €	90 €
Electroforesis 2D				
Minigel	Electroforesis bidimensional (incluye precipitación de la muestra, tinción visible y escaneo del gel)	150 €	225 €	450 €
Gel				
DIGE	Diseño experimental, preparación y precipitación de la muestra, gel bidimensional tradicional para confirmación de condiciones experimentales	Consultar		
	Gel bidimensional DIGE (marcaje con 3 fluorocromos, 2d-PAGE y adquisición de imágenes) y análisis de imágenes (De Cyder™) (por hora) a través de servicio externo	Consultar		
Tinciones				
Tinción Azul de coomassie Coloidal Minigel	Tinción visible de proteínas totales	10 €	15 €	30 €
Tinción Azul de coomassie Coloidal Gel	Tinción visible de proteínas totales	20 €	30 €	60 €
Tinción Fluorescente Sypro Ruby Minigel	Tinción fluorescente de proteínas totales	30 €	45 €	90 €
Tinción Fluorescente Sypro Ruby Gel	Tinción fluorescente de proteínas totales	60 €	90 €	180 €
Tinción Fluorescente ProQ Diamond Minigel	Tinción fluorescente de proteínas fosforiladas	30 €	45 €	90 €
Tinción Fluorescente ProQ Diamond Gel	Tinción fluorescente de proteínas fosforiladas	60 €	90 €	180 €
Tinción Fluorescente Pro-Q Emerald Minigel	Tinción fluorescente de proteínas glicosiladas	30 €	45 €	90 €
Tinción Fluorescente Pro-Q Emerald Gel	Tinción fluorescente de proteínas glicosiladas	60 €	90 €	180 €
Adquisición de imágenes				
ImageScanner III (por hora)		20 €	30 €	60 €
Análisis de resultados				
Incluye análisis de resultados 2D en visible (por hora). Software: PDQUEST 2D o ImageMaster 2D Platinum 7.0		30 €	45 €	90 €

Tipo de análisis	Servicio	Tarifas		
		I+12	Centros Públicos	Centros privados
Transferencia a membrana PVDF/ nitrocelulosa				
Transferencia a membrana PVDF/ nitrocelulosa	Minigel	25 €	37,5 €	75 €
	Gel	35 €	52,5 €	105 €
Transferencia a membrana PVDF/ nitrocelulosa Baja Fluorescencia	Minigel	30 €	45 €	90 €
	Gel	40 €	60 €	120 €
Determinación de masas moleculares				
Análisis mediante MALDI-TOF	Precio por muestra. Servicio Externo	Consultar		
Identificación de proteínas por huella peptídica				
Análisis mediante MALDI-TOF/TOF	Precio por muestra. Servicio Externo	Consultar		
Identificación de proteínas por huella peptídica y fragmentación				
Análisis mediante MALDI-TOF/TOF	Precio por muestra. Servicio Externo	Consultar		
Identificación de proteínas mediante LC-MS/MS				
Análisis mediante trampa iónica	Mezclas sencillas. Servicio Externo	Consultar		
	Mezclas complejas. Servicio Externo			
Análisis mediante nESI-MS/MS	Análisis espectrometría de masas-trampa iónica con fragmentación de péptidos MSn en modo nano. Servicio Externo	Consultar		
Proteómica dirigida				
Desarrollo de MRM por proteína	Servicio Externo	Consultar		
Proteómica cuantitativa				
iTRAQ, SILAC	Servicio Externo	Consultar		
Isoelectroenfoque preparativo				
Análisis mediante 3100 OFFGEL	Baja Resolución. Precio por muestra	150 €	225 €	450 €
	Alta Resolución. Precio por muestra	175 €	260 €	520 €
Preparación de muestras				
Homogenado Total	Muestra procedente de tejido	15 €	30 €	60 €
	Muestra procedente de fluido	25 €	37,5 €	75 €
	Muestra procedente de cultivos celulares	15 €	30 €	60 €
Precipitación de proteínas	Precio por muestra	15 €	30 €	60 €

Tipo de análisis	Servicio	Tarifas		
		I+12	Centros Públicos	Centros privados
Inmunoensayos				
MInigel	Incluye el diseño experimental y la optimización de las condiciones experimentales de un anticuerpo. Precio por muestra.	140-160 €	280-320 €	540-640 €
Gel	Incluye el diseño experimental y la optimización de las condiciones experimentales de un anticuerpo. Precio por muestra	160-180 €	320-360 €	640-720 €
Blue Native				
Análisis de la Cadena Respiratoria Mitocondrial en gel en condiciones nativas.	1D e inmunoensayo con 4 anticuerpos (uno por complejo)	Consultar		
	In Gel Activity CI, CIII, CIV y CV	Consultar		
	1D, 2D e Inmunoensayo 4 anticuerpos (uno por complejo)	Consultar		