

Grupo de Bioanálisis. Universidad de Barcelona

J. Barbosa

Dpto. Química Analítica, Facultad de Química, Universidad de Barcelona

Componentes del grupo

J. Barbosa, Catedrático de Universidad; V. Sanz-Nebot, Profesora Titular de Universidad; F. Benavente, Profesor Lector; E. Hernández, Becaria; E. Jiménez, Becaria; P. Moya, Becaria; M. Borges, Becaria; R. Palomares, Becaria.

Historia del grupo

Los trabajos de nuestro grupo de investigación están enfocados al desarrollo y propuesta de métodos de purificación, separación, detección y caracterización de péptidos, proteínas y glicoproteínas de gran interés en campos como el farmacológico, biomédico, alimentario y biotecnológico. Se utilizan para ello las técnicas que ofrecen las mejores prestaciones, es decir: la cromatografía de líquidos (LC) y la electroforesis capilar (CE) acopladas a diferentes tipos de analizadores de masas (MS), como trampas iónicas (IT), tiempo de vuelo (TOF) o triplecuadrupolo (QQQ). A fin de purificar las muestras y aumentar la sensibilidad, se desarrollan métodos de preconcentración en línea con CE-ES-MS y LC-ES-MS, de extracción en fase sólida (SPE) y de inmunofinidad (IA), proyectando métodos tridimensionales por SPE-CE-ES-MS o IA-CE-ES-MS. Estas metodologías se aplican a series de sustancias de interés, en medios biológicos, tales como series de neuropéptidos, eritropoyetina (EPO), transferrina (Tr) o priones (PrP).

El grupo de Bioanálisis, encuadrado en el Departamento de Química Analítica de la Universidad de Barcelona, desarrolla sus trabajos, desde hace más de dos décadas, inicialmente enfocados al desarrollo de métodos analíticos de sustancias de gran interés terapéutico en diferentes materiales biológicos, utilizando técnicas novedosas. Ello ha permitido que los egresados del grupo hayan sido absorbidos rápidamente por las empresas de nuestro

entorno, lo que a la larga puede favorecer el desarrollo por parte del grupo, de trabajos de transferencia del conocimiento en el entorno industrial. Las publicaciones realizadas han sido numerosas a lo largo de estos años, muchas de ellas sobre bioanálisis de sustancias de interés farmacológico y otras relacionadas con el diagnóstico de enfermedades. Las series de sustancias estudiadas han sido numerosas y en diferentes materiales biológicos.

Objetivos científicos

Las investigaciones del grupo tienen como objetivos generales aplicar los estudios de preconcentración, cromatográficos, electroforéticos y de espectrometría de masas, desarrollados previamente, a la purificación, separación y caracterización de series de hormonas peptídicas y proteínas y de glicofomas proteicas de gran interés en muestras biológicas. Todo ello, aplicando técnicas que ofrecen buenas prestaciones en la actualidad como: MALDI-TOF, LC-ES-QQQ, CE-ES-TOF, CE-ES-IT, SPE-CE-ES-IT entre otras. Se proyecta así continuar los estudios, complejos pero de gran actualidad e interés en numerosos campos, sobre la preconcentración, separación y caracterización de glicofomas proteicas. La principal hipótesis de la que se parte es considerar la diferente glicosilación y en consecuencia el distinto perfil electroforético, que pueden presentar las glicoproteínas recombinantes y las endógenas, lo que se puede aprovechar para el control del dopaje de EPO, o bien las diferencias entre glicoproteínas normales o patológicas para el diagnóstico de enfermedades, como el síndrome de glicosilación deficiente, el alcoholismo o las encefalopatías espongiiformes transmisibles (EET). Los objetivos concretos pueden resumirse en:

- Bioanálisis de series de neuropéptidos y series de proteínas, de gran interés clínico, en sueros humanos. Aplicaciones al diagnóstico de enfermedades.

- Preconcentración, detección y caracterización de eritropoyetina (EPO) y de su análogo hiperglicosilado (NESP) en fluidos biológicos por ALC-IACE-ES-MS.
- Desarrollo de métodos de diagnóstico de glicosilación deficiente congénita y de alcoholismo.
- Desarrollo de metodologías de purificación, detección y caracterización de priones en materiales biológicos de ganado vacuno, utilizando técnicas acopladas ALC-IACE-ES-MS. Aplicaciones al diagnóstico de EETs.

Proyectos financiados en convocatorias públicas

- Preconcentración, detección y caracterización de priones en materiales biológicos por cromatografía de líquidos y electroforesis capilar de afinidad acoplada a la espectrometría de masas.
- Purificación, separación, caracterización y secuenciación de isoformas y glicofomas de proteínas y glicoproteínas contenidas en materiales biológicos de gran interés farmacológico y biomédico.
- Detección y caracterización de eritropoyetina recombinante humana (rHuEPO) y NESP en orina por electroforesis capilar acoplada a la espectrometría de masa con preconcentración en línea (IACE-MS).
- Sistema molecular totalmente automático para el estudio de proteínas o fracciones proteicas inhibitoras de la coagulación sanguínea. EUREKA.

Publicaciones

- V. Sanz-Nebot, F. Benavente, I. Toro, J. Barbosa. Evaluation of Chromatographic vs. Electrophoretic Behavior of a Series of Therapeutical Peptide Hormones. *J. Chromatogr. A*, 985, 411-423 (2003).
- V. Sanz-Nebot, P. Gonzalez, I. Toro, A. Ribes, J. Barbosa. Characterization of Hu-

man Transferrin glycoforms by Capillary Electrophoresis and Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. B*, 798, 1-7 (2003).

- V. Sanz-Nebot, B. Andón, J. Barbosa. Characterization of Metallothionein Isoforms from Rabbit Liver by Liquid chromatography Coupled to Mass spectrometry. *J. Chromatogr. B*, 796, 379-393 (2003).
- V. Sanz-Nebot, F. Benavente, A. Vallverdú, N.A. Guzmán, J. Barbosa. Separation of Recombinant Human Erythropoietin glycoforms by Capillary Electrophoresis Using Volatile Electrolytes. Assessment of Mass Spectrometry for the Characterization of EPO Glycoforms. *Anal. Chem*, 756, 5220-5229 (2003).
- V. Sanz-Nebot, F. Benavente, I. Toro, J. Barbosa. Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Approach for the characterization and purification of grüne synthetic peptide hormones. *Analytical and Bioanalytical chemistry*, 377, 306-315 (2003).
- V. Sanz-Nebot, F. Benavente, I. Toro, J. Barbosa. Separation and characterization of complex crude mixtures produced in the synthesis of therapeutic peptide hormones by Liquid Chromatography coupled to Electrospray Mass Spectrometry (Lc-ES-MS). *Analítica Chimica Acta*, 521, 25-36 (2004).
- V. Sanz-Nebot, E. Balaguer, F. Benavente, J. Barbosa. Comparison of a Sheathless and Sheath Flow Electrospray Interfaces for the CE-ESI-MS of Analysis of Peptides. *Electrophoresis*, 26, 1457-1465 (2005).
- V. Sanz-Nebot, F. Benavente, E. Gimenez, J. Barbosa. Capillary Electrophoresis and Matrix-Assisted Laser-Desorption/ionization Time-of-flight Mass Spectrometry for analysis of the Novel Erythropoiesis Stimulating protein (NESP). *Electrophoresis*, 26, 1454-1456, (2005).
- F. Benavente, E. Balaguer, J. Barbosa, V. Sanz-Nebot. Modelling migration behavior of peptide hormones in capillary electrophoresis electrospray mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1117, 94-102, (2006).

- Balaguer E, Demelbauer U, Pelzing M, Sanz-Nebot V, Barbosa J, Neuss C. Glycoform characterization of erythropoietin combining glycan and intact protein analysis by capillary electrophoresis - electrospray - time-of-flight mass spectrometry. *Electrophoresis*, 27, 2638-2650 (2006).
- V. Sanz-Nebot, F. Benavente, E. Hernández, J. Barbosa. Evaluation of electrophoretic behaviour of opioid peptides. Separation by capillary electrophoresis-electrospray ionization mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 577, 68-76, (2006).
- V. Sanz-Nebot, B. Andón, J. Barbosa. Separation and Characterization of Rabbit Liver Apothioneins by CE-TOF-MS. *Electrophoresis*, 27, 3661-3670, (2006).