

## Grupo de Proteómica. CIMA

*Fernando J. Corrales*

Unidad de Proteómica. Fundación para la Investigación Médica Aplicada (FIMA) y Universidad de Navarra. Pamplona.

### Componentes del grupo

Fernando J. Corrales. Profesor Asociado; María Isabel Mora. Técnica; Carmen Miqueo. Técnica; Sonia Beaumont. Técnica; Enrique Santamaría, Contratado postdoctoral; Joaquín Fernández, Contratado postdoctoral; Javier Muñoz, Contratado postdoctoral; Laura Sesma, Becaria; Virginia Sánchez, Becaria; Leticia Odriozola, Becaria.

### Historia del grupo

La Unidad de proteómica del CIMA es, por una parte, un servicio de apoyo a la investigación que facilita medios tecnológicos así como la formación de investigadores a través de la organización de cursos y seminarios. Sin embargo, siempre hemos entendido que es esencial mantener líneas de investigación activas que incentiven la incorporación de los nuevos avances tecnológicos y el desarrollo de métodos de análisis que se ajusten a las necesidades de la investigación biomédica actual. Con esta idea, hemos configurado un grupo homogéneo integrado por tecnólogos, responsables del mantenimiento y ejecución de las técnicas ya establecidas y científicos con diverso grado de experiencia que utilizan las nuevas aproximaciones tecnológicas en el desarrollo de sus proyectos. Una vez comprobada la eficacia y establecido un método de análisis fiable y reproducible, las nuevas técnicas se incorporan a la rutina del servicio.

En la actualidad, nuestro grupo está integrado por 3 técnicos, 3 becarios predoctorales y 3 postdoctorales. En la parte técnica, María Isabel Mora es la responsable de la separación de proteínas mediante electroforesis bidimensional, de la plataforma DIGE y del análisis de proteínas mediante huella peptídica (MALDI TOF). Carmen Miqueo se ocupa de la caracterización de proteínas y otras biomoléculas mediante nanoLC-ESI-MS/MS. Finalmente Sonia Beaumont se encarga de las técnicas de separación

basadas en HPLC, FPLC y rotofor. Todas ellas realizan una inestimable contribución al desarrollo de las líneas de investigación que a continuación se resumen. En cuanto a los proyectos de investigación, Laura Sesma con Virginia Sánchez son responsables de definir la actividad biológica de la prohibitina, proteína que participa en el control de procesos celulares esenciales como la proliferación y la apoptosis, así como las alteraciones con implicaciones en el desarrollo de enfermedades hepáticas. Laura es además la responsable de coordinar las actividades de nuestro laboratorio en relación con ProteoRed. Enrique Santamaría, Joaquín Fernández y Javier Muñoz han caracterizado el proteoma hepático de un modelo experimental de esteatohepatitis no alcohólica y hepatocarcinoma. La información obtenida se ha combinado con el análisis de muestras humanas para identificar potenciales biomarcadores tempranos tanto en tejido como en suero, y definir algunos de los mecanismos implicados en la progresión de estas enfermedades. Este proyecto sirvió además para poner a punto las técnicas de proteómica tradicionales. Joaquín ha caracterizado la actividad de la metiltioadenosina fosforilasa (proteína que se ha asociado al proceso de transformación y desdiferenciación de hepatocitos) y su regulación por radicales libres, tanto con la proteína purificada como en un modelo celular, definiendo los residuos de cisteína implicados en este proceso y el mecanismo molecular que implica la formación de intermediarios oxidados y el establecimiento de puentes disulfuro. Los estudios de espectrometría de masas destinados a identificar dichos puentes disulfuro se están realizando en colaboración con el laboratorio de proteómica del CIPF liderado por Manuel M. Sánchez del Pino. Javier ha caracterizado extensivamente la NDUFA10, una subunidad del complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial cuya deficiencia se ha implicado en la enfermedad de Parkinson, mediante la interpretación *de novo* de los espectros de fragmentación correspondientes a 130 especies peptídicas que son el resultado de diversas modificaciones. Enrique ha analizado la capacidad de diferentes técnicas para estudiar

fosfoproteomas y en la actualidad está aplicando el conocimiento generado en el estudio de las alteraciones inducidas por inhibidores del proteasoma en el patrón de fosfoproteínas de células hepáticas. Además Enrique está desarrollando un proyecto cuyo objetivo es caracterizar el mecanismo de acción de virus oncolíticos, de potencial utilidad en el tratamiento del hepatocarcinoma, mediante el estudio de las alteraciones a nivel de proteoma inducidas en hepatocitos primarios y líneas celulares hepáticas transformadas para así impulsar el desarrollo de nuevas generaciones de virus más efectivos y específicos. Leticia Odriozola, reciente incorporación a nuestro grupo, es actualmente la responsable de un trabajo cuyo objetivo es la identificación de marcadores de fibrosis hepática en suero y orina mediante la combinación de electroforesis bidimensional y cromatografía líquida con espectrometría de masas. Además en este proyecto estamos utilizando SELDI TOF en colaboración con el grupo del CNB liderado por Juan Pablo Albar. Finalmente es necesario destacar la labor de Angel Rubio, Víctor Segura y Elisabeth Guruceaga que se encargan del mantenimiento y desarrollo de los recursos bioinformáticos que son esenciales para el eficaz funcionamiento de la unidad.

### Colaboraciones

- Dr. Javier Corral. Universidad de Murcia.
- Dr. Antonio Rodríguez Ariza. Hospital Reina Sofía de Córdoba.
- Dra. Ana Patiño. Clínica Universitaria de Navarra.
- Dr. Pablo Ortiz. Digna Biotech.
- Dr. Rubén Hernández. CIMA

### Proyectos de investigación

- Caracterización funcional de la prohibitina. Implicación en el desarrollo de enfermedades hepáticas y hepatocarcinoma mediante técnicas de proteómica. Ministerio de Educación y Ciencia.
- Targeted herpes simplex virus (HSV-1)-derived oncolytic vectors to kill hepato-

cellular carcinomas (THOVLEN). STREP FP6-2004-LIFESCIHEALTH-5 018649.

- Biología de sistemas: desarrollo de software para la integración de datos derivados de análisis de expresión de genes y proteínas a escala genómica. PROFIT FIT-340000-2005-353.
- Financiación como grupo integrado en el Instituto Nacional de Proteómica, ProteoRed concedida por Genoma España.
- Aproximación proteómica para la determinación de dianas asociadas con el diagnóstico, la respuesta al tratamiento y el desarrollo de metástasis en el osteosarcoma infantil. Gobierno de Navarra.

### Publicaciones

- Lapaque (N.), Takeuchi (O.), Corrales (F.), Akira (S.), Morrión (I.), Howard (J.), & Gorvel (J.P.), 2006.- Differential inductions of TNF- $\alpha$  and IGTP, IIGP by structurally diverse classic and non-classic lipopolysaccharides. *Cellular Microbiology*. 8(3): 401-413.
- Santamaría (E.), Muñoz (J.), Fernández-Irigoyen (J.), Sesma (L.), Mora (M.), Berasain (C.), Lu (S.), Mato (J.), Prieto (J.), Avila (M.), and Corrales (F.), 2006.-Molecular profiling of hepatocellular carcinoma in mice with a chronic deficiency of hepatic S-adenosylmethionine. Relevance in human liver diseases. *Journal of Proteome Research*. 5(4):944-953.
- Moreno (B.), Hevia (H.), Santamaría (M.), Sepulcro (J.), Muñoz (J.), García-Trevijano (E.), Corrales (F.), Avila (M.), Villoslada (P.), 2006.- Methylthioadenosine suppresses T cell activation and reverse brain autoimmune disease. *Annals of Neurology*. 60(3):323-334.
- Lopez-Sanchez (L.), Collado (J.), Corrales (F.), Lopez-Cillero (P.), Montero (J.), Fraga (E.), Serrano (J.), De La Mata (M.), Muntane (J.), Rodriguez-Ariza (A.), 2007.- S-nitrosation of proteins during d-galactosamine-induced cell death in human hepatocytes. *Free Radic Res*. 41(1):50-61.

- Rubio (A.), Guruceaga (E.), Vázquez-Chantada (M.), Sandoval (J.), Martínez-Cruz (L.), Segura (V.), Sevilla (J.), Podhorski (P.), Corrales (F.), Torres (L.), Rodríguez (M.), Aillet (F.), Ariz (U.), Caballería (J.), Martín-Duce (A.), Lu (S.), Martínez-Chantar (M.), Mato (J.), 2007.- Gene-pathway identification associated with non-alcoholic steatohepatitis. *Journal of Hepatology*. 46(4):708-18
- Santamaría (E.), Muñoz (J.), Fernández-Irigoyen (J.) and Corrales (F.), 2007.- Towards the discovery of new biomarkers of hepatocellular carcinoma by proteomics. *Liver Internacional*. 163-173.