

## ProteoRed: iniciativa española en proteómica. Su primer año de vida

*Juan Pablo Albar*

Centro Nacional de Biotecnología, UAM-CSIC, Madrid

El Instituto Nacional de Proteómica o, abreviadamente, ProteoRed, [www.proteored.org](http://www.proteored.org), se creó por iniciativa de Genoma España como una Plataforma Tecnológica, a partir de laboratorios ya operativos, cuyo principal objetivo es coordinar, integrar y normalizar las actividades de los servicios de proteómica para garantizar el acceso de la comunidad científica a las tecnologías proteómicas.

El 1 de junio de 2006 ProteoRed cumplió 1 año desde su constitución oficial. Se constituyó con 15 laboratorios Socios, y durante de este año se ha gestionado la incorporación de otras 5 instituciones como Grupos Asociados (material suplementario, figura 1). Estas instituciones participan al mismo nivel que los socios en las actividades intrínsecas de ProteoRed, y se les ha proporcionado presupuesto para ello. Recientemente se ha incorporado el Complejo Hospitalario Juan Canalejo de A Coruña como sexto Grupo Asociado. Además, dos grupos portugueses colaboran y participan activamente en varios grupos de trabajo de ProteoRed.

Se ha contratado la totalidad del personal técnico previsto (22 Titulados Superiores Especializados), así como el personal administrativo para la unidad de coordinación.

A lo largo de este primer año de vida, ProteoRed ha centrado su actividad en mejorar la calidad de los servicios ofertados por sus laboratorios, tanto hacia los usuarios como en su funcionamiento interno, en alcanzar un consenso de precios, establecer un plan de formación, darse a conocer en los medios de comunicación tanto a través de su sitio Web como en eventos científicos de relevancia y en establecer contactos con otros centros y redes proteómicas a nivel internacional.

A continuación, se detallan las actividades realizadas y el estado actual de cada uno de los Grupos de Trabajo así como de la Unidad de Coordinación.

### Actividades desarrolladas por los grupos de trabajo

Se constituyeron todos los grupos de trabajo e iniciaron las actividades siguiendo las directrices recogidas en la Memoria ProteoRed.

A fecha 20 de Junio de 2006 se envió a la agencia financiadora, Genoma España, el informe anual actividades. Este artículo es una traducción casi literal del que allí se envió y puede ser consultado y “descargado”, en su versión original en inglés, en la parte privada del sitio Web de ProteoRed, como así mismo se puede hacer con las presentaciones PowerPoint de todos y cada uno de los eventos organizados por el Instituto Nacional de Proteómica. En aquel informe ya se declaraba que “Todos los Grupos de Trabajo (WG1-6) están plenamente operativos habiendo cumplido con creces todos los objetivos marcados”.

Los coordinadores de cada grupo de trabajo (tabla 1), presentaron un plan de acción en el primer Workshop de ProteoRed, celebrado en Miraflores de la Sierra, 26-27/09/2005; en el segundo Workshop de ProteoRed, celebrado en Bilbao, 3/05/2006 se pusieron en común los resultados correspondientes a las actividades realizadas a lo largo de la primera “anualidad” de ProteoRed.

### WG1. Desarrollo tecnológico y estandarización de protocolos

Los principales objetivos son:

- i) Comparación de los diferentes protocolos experimentales y los datos obtenidos tras su aplicación para posteriormente estandarizar los diferentes abordajes tanto tecnológicos como experimentales.

- ii) Análisis, chequeo, validación y optimización de las plataformas tecnológicas relevantes para un laboratorio de servicios de proteómica con el propósito de poder implementar estas tecnologías que se consideren de interés para ProteoRed.

En este contexto, los datos obtenidos de las diferentes plataformas se compararan para establecer la manera más adecuada de resolver problemas comunes de un laboratorio de servicios de proteómica.

Tabla 1. Estructura de los seis grupos de trabajo de ProteoRed con sus correspondientes coordinadores de grupo

<i>Grupo de trabajo</i>	<i>Objetivo</i>	<i>Coordinadores</i>
WG 1	Desarrollo tecnológico y estandarización de protocolos	Juan Pablo Albar, Alberto Paradela
WG 2	Recolección y manipulado de muestras	Francesc Canals, Montserrat Carrascal
WG 3	Soporte bioinformático	José M <sup>a</sup> Carazo
WG 4	Escala de precios y organización funcional de los servicios de proteómica	Sonia Martínez, Félix Elortza
WG 5	Formación, educación y difusión	Concha Gil, José A. Bárcena
WG 6	Internacionalización y coordinación con otros consorcios o plataformas proteómicas internacionales	José M <sup>a</sup> Mato, Juan P. Albar, Concha Gil

De acuerdo con estos objetivos (Miraflores de la Sierra, Madrid, 26/27 de Septiembre 2005) se decidió tomar parte en el concurso del ABRF06. El grupo de investigación en estándares en proteómica del ABRF elaboró una mezcla relativamente compleja y bastante bien definida de proteínas para evaluar el nivel de rendimiento de los laboratorios participantes. La mezcla incluye 49 proteínas humanas, altamente puras (>95%) de diferentes orígenes (5 pmoles/proteína). Los laboratorios participantes eran libres de utilizar la metodología y la tecnología que estimasen conveniente para obtener el mayor número de identificaciones.

Los resultados de las identificaciones se presentaron en reunión anual de la ABRF que tuvo lugar en Long Beach, California (Febrero 2006). Una comparación extensiva de los resultados obtenidos por los miembros participantes de ProteoRed con los obtenidos por el resto de los participantes se expuso en la reunión de seguimiento de ProteoRed en Bilbao (Mayo 2006). Las principales conclusiones de esta comparación fueron:

- i) El porcentaje de laboratorios de ProteoRed que han participado en el evento ha sido del 80%.
- ii) Las aproximaciones experimentales y tecnológicas usadas por los miembros de Pro-

teoRed han sido similares a las descritas en el estudio general del ABRF por otros participantes.

- iii) Los resultados globales de ProteoRed reflejan exactamente el amplio rango de resultados expuestos en el concurso del ABRF06.
- iv) Los laboratorios participantes de ProteoRed obtuvieron un menor número de identificaciones erróneas, incluyendo un mayor porcentaje de laboratorios que presentaron un 100% de identificaciones correctas.
- v) Ningún laboratorio participante identificó el total de las 49 proteínas presentes en la muestra.
- vi) La mezcla de proteínas del ABRF no parece ser adecuada para el fraccionamiento utilizando 2D-PAGE y análisis por huella de masas peptídicas, PMF.
- vii) Algunas plataformas tecnológicas de identificación produjeron mejores resultados que otras, aunque con la experiencia y la pericia de los técnicos se pudo superar la falta de instrumentos de alta tecnología.

Globalmente, los miembros del WG1 de ProteoRed consideran esta actividad de gran interés y por

lo tanto las posteriores actividades de este grupo de trabajo han sido la nueva distribución de un nuevo estándar complejo de proteínas (suministrado amablemente por SIGMA-ALDRICH) y su posterior análisis. Para este nuevo análisis se han utilizado nuevos enfoques tanto experimentales y tecnológicos y sus resultados están siendo comparados con los obtenidos en el primer experimento del ABRF.

Se ha potenciado el uso de varios motores de búsqueda por lo que ha puesto a disposición de todos los miembros participantes una nueva licencia multiusuario de Phenyx (GeneBio, Suiza). Los resultados de este nuevo experimento han sido expuestos en la reunión de seguimiento del WG1 (Miraflores de la Sierra, Madrid, Noviembre 2006) y se pueden consultar en detalle en <http://www.proteored.org>.

## WG2. Recolección y manipulado de muestras

Los objetivos del WG2 se resumen en:

- i) Proporcionar a los miembros y usuarios de ProteoRed unos protocolos de recogida, preparación, almacenaje y distribución de muestras.
- ii) Seleccionar y distribuir periódicamente a los laboratorios de ProteoRed de muestras de referencia para garantizar la reproducibilidad y estandarización de las diferentes tecnologías proteómicas utilizadas en la red.

Las actividades llevadas a cabo por este WG para la consecución de los objetivos han sido:

- i) Revisión bibliográfica y a través de Internet de los protocolos de recogida y manipulado de muestras para experimentos de proteómica y la revisión de las recomendaciones de HUPO para la recogida de muestras humanas. Diseño de protocolos-patrón para la preparación y análisis 2D de muestras de diferentes orígenes. Todos los documentos y sus enlaces estarán disponibles a los miembros de ProteoRed a través de su aplicación Web.
- ii) Ensayo para validar un estándar de la técnica LC-ESI-MS por la mayoría de los laboratorios de ProteoRed y organizado por la Association of Biochemical Resource Fa-

cilities (ABRF). Algunos laboratorios han utilizado esta muestra para estandarizar sus técnicas 2D, pero tras los resultados obtenidos, la necesidad de preparar un estándar específico 2D es cada vez más evidente.

Durante la reunión de seguimiento del WG1-WG2 mantenida en Miraflores, Madrid en Marzo de 2006 se decidió llevar a cabo un experimento de estandarización de la separación electroforética 2D. El objetivo de este experimento es doble; examinar los protocolos de preparación de la muestra y la separación electroforética 2D en gel.

El laboratorio coordinador del WG2 preparó dos muestras estándar de un cultivo de la línea celular A431 de carcinoma epidérmico humano (es una mezcla compleja de proteínas y se consigue en grandes cantidades). Las muestras se distribuyeron junto con un cuestionario para catalogar la preparación de muestras, cuantificación proteica y protocolos de separación 2D.

Los resultados preliminares (selección de protocolos o tecnologías idóneas, etc) se presentaron en la reunión anual de ProteoRed (Bilbao, mayo 2006) y la evaluación final del estudio se ha presentado en la 2ª reunión de seguimiento (Miraflores de la Sierra, noviembre 2006).

## WG3. Soporte bioinformático

Los principales objetivos del WG3 a lo largo de este pasado año han sido:

1. Elaboración de un inventario de recursos para conocer la situación de recursos bioinformáticos de cada laboratorio. Para llevar a cabo este objetivo se envió un cuestionario a cada laboratorio, se preparó una base de datos con la información recogida, se hizo un estudio estadístico y se presentaron las conclusiones. Asimismo, se visitaron todos los laboratorios para completar la información sobre la situación particular de cada uno.
2. Mejora de la infraestructura bioinformática de ProteoRed mediante la interacción con el Instituto Nacional de Bioinformática (INB). La implantación de dos motores de búsqueda para la identificación de proteínas (MASCOT y PHENYX) esta siendo evaluada en colaboración con el nodo computacional del PCM-INB.

3. Desarrollo de una aplicación Web para automatizar las peticiones de servicio de cada laboratorio de ProteoRed. Este objetivo se está llevando a cabo en dos fases, un sistema global para registrar todas las peticiones de los clientes de ProteoRed y una integración en ProteoRed de las aplicaciones ya desarrolladas en cada laboratorio.
4. Estudiar una propuesta de estandarización de las comunicaciones entre todos los laboratorios de ProteoRed.
5. Valorar la implementación de un sistema LIMS (Laboratory information management system) o pseudo-LIMS en ProteoRed. Se están considerando dos posibilidades: una extensión de la aplicación Web en el área de la trazabilidad o la adquisición de un sistema LIMS profesional.
6. Colaborar con el WG5 (formación y educación) en la organización de cursos de formación en temas relacionados con la bioinformática. Este año se han organizado 2 cursos presenciales sobre "Bioinformatics applied to Proteomics" (Madrid, abril 2006) y "How to analyze 2-DE gels and Publishing 2-DE data" (Madrid, mayo 2006).

#### **WG4. Organización funcional del laboratorio y coordinación de la escala de precios**

Tras la identificación de una persona de contacto en cada laboratorio, la principal tarea de este grupo de trabajo ha sido la preparación de una lista detallada (agrupada en seis categorías fijas) de los servicios ofertados en sus laboratorios. Además, se distribuyeron dos modelos (del CNB-CSIC y del PCB) para calcular los precios de los servicios y poder establecer un rango de precios.

El análisis de los precios revela un alto grado de dispersión en los precios de cada servicio debido principalmente a las diferencias existentes entre los grupos (departamentos universitarios, fundaciones privadas, etc) y a la definición no homogénea de los servicios que se ofertan. Durante los primeros meses del año 2006, esta lista de servicios se reelaboró, reduciendo el número de categorías y detallando cada servicio.

En marzo de 2006 tuvo lugar la primera reunión en Barcelona. El objetivo de esta reunión

era la puesta en común de cada lista de precios exponiendo uno por uno los servicios ofertados; lo que incluye cada servicio y cómo se calculó el precio de ese servicio. Tras esta reunión se alcanzó un acuerdo sobre un rango de precios para cada servicio y el compromiso de que los grupos fuera de rango tomarían las medidas oportunas para adecuarse a esos precios el próximo año. Este documento final se presentó en la primera reunión anual de ProteoRed (Bilbao 2006) y se encuentra disponible en nuestro sitio Web.

Durante el próximo año se trabajará en la definición y la estandarización de los procedimientos comunes de trabajo, informes normalizados, etc

#### **WG5. Formación, educación y difusión de los servicios de proteómica**

El grupo de trabajo 5 ha completado con éxito los objetivos propuestos para el primer año de ProteoRed. Los cursos de formación desarrollados este año han tenido tres objetivos:

1. Formar a los nuevos técnicos de las unidades de proteómica de ProteoRed,
2. formar e informar a investigadores en general en el área de la proteómica, y
3. formar a los miembros de ProteoRed en nuevas técnicas de proteómica.

Se distribuyó un cuestionario para saber las necesidades y preferencias de formación de los distintos miembros de ProteoRed. Operativamente, este grupo de trabajo ha tenido varias tele-conferencias a lo largo de este año además de haber organizado una serie de cursos en colaboración tanto con el INB como con la EUPA.

La relación de cursos realizados es:

- Mesa redonda sobre las "Nuevas tecnologías en el diagnóstico y la investigación médica", incluido en la IX Conferencia Anual del Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona, Noviembre 2005.
- Sesiones prácticas "Protein identification through MALDI TOF/TOF mass spectrometry". Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona, 7-9 de Noviembre de 2005.

- Curso “Bioinformática Aplicado a la Proteómica”. Campus de Rabanales, Córdoba, 23-24 de Marzo de 2006.
- Seminario “The Ludesi for Professional 2D gel image analysis”. Hospital Sant Pau, Barcelona, 8 de Marzo 2006.
- Curso “Bioinformática Aplicado a la Proteómica”. Fac. Farmacia UCM, Madrid, 3-5 de Abril de 2006. Realizado en colaboración con el INB.
- Curso “II curso práctico sobre Proteómica”. Campus de Rabanales, Córdoba, 15-19 de Mayo de 2006.
- Curso Avanzado de Proteómica: “Publishing 2-DE data”. Curso ProteoRed-EUPA (European Proteomics Association) en colaboración con el Swiss Bioinformatics Institute (SIB/SBI). Fac. CC. Químicas UCM, Madrid, 16-17 Mayo de 2006.
- Curso “2-DE DIGE Workshop”. Fac. Farmacia UCM, Madrid, 29-31 de Mayo de 2006.
- Curso “Training in Protein Identification”. Fac. CC. Químicas UCM, Madrid, 21-22 de Septiembre de 2006.

Asimismo estos cursos se repetirán actualizados en el próximo periodo (Junio 2006-Mayo 2007 en diferentes ciudades (Barcelona, Bilbao, Valencia, Córdoba, Salamanca).

Además, 3 cursos de ProteoRed se han preparado en colaboración con el grupo de formación de la EuPA: “Advanced proteomics technologies (ProteoRed-EuPA course), UCM, Madrid, Octubre 2006, el curso teórico “How to share our data” que coincidirá con el primer congreso europeo de la EuPA en Valencia, Febrero 2007 y un curso sobre fosfoproteómica con fecha aun por determinar.

#### **WG6. Internacionalización y coordinación con otros consorcios y plataformas internacionales**

Se han establecido contactos con otras redes de proteómica extranjeras, centros de investigación, consorcios y asociaciones mediante la participación activa en reuniones, congresos, videoconferencias y concursos como viene reflejado en la secciones de

reuniones y actividades desarrolladas, cursos realizados y contactos con otras redes internacionales.

A pesar de su corto periodo de vida, ya se han establecido contactos con importantes redes y asociaciones internacionales:

- Human Proteome Organisation, HUPO (HUPO-Liver and HUPO PSI-Proteomics Standard Initiatives).
- European Proteomics Association, EuPA
- Red Proteómica Portuguesa, Procura
- Red Portuguesa de Espectrometría de Masas, ITQB
- Finnish Center for Biotechnology, FCB.
- Swiss Institute of Bioinformatics, SIB
- Association of Biomolecular Resource Facilities, ABRF. Proteomics Standards

#### **Unidad de Coordinación**

El objetivo de la Unidad de Coordinación, ha sido y sigue siendo, organizar y coordinar todas las actividades que se realizan en los diferentes grupos de trabajo, así como llevar a cabo todas las iniciativas que implica constituir desde el inicio un Instituto a nivel nacional y darle a conocer entre la comunidad científica y empresarial nacional e internacional.

Algunas de las actividades más destacadas de la Unidad de Coordinación a lo largo de su primer año han sido:

- Informe sobre el equipamiento y software de todos los laboratorios, incluyendo los Grupos Asociados, y otro informe recopilando los servicios ofertados por cada laboratorio.
- Página Web completamente operativa, incluyendo una parte externa pública y privada dedicada a los clientes, así como una parte interna pública y privada para los miembros de ProteoRed.
- Anuncio publicado en la revista *Proteomics* de mayo de 2005.
- Expositores en la Feria Biospain-Biotech 2006, 18-20 septiembre 2006.

- Los 25 contratos previstos han sido formalizados.

El contacto y colaboración con Genoma España es continuo. Se han realizado informes de cada una de las reuniones, así como informes semestrales y anuales de situación.

Existe comunicación real y activa entre la Unidad de Coordinación y las Coordinaciones Asociadas, al igual que con los laboratorios. Desde la Unidad de Coordinación, los grupos de trabajo están respaldados y asistidos.

En diciembre de 2005 se actualizó el presupuesto para la 2ª anualidad, incrementándose en 500.000 euros para equipamiento.

Se estableció un Consejo Asesor Externo constituido por expertos mundiales en proteómica y bioinformática, que reporta dos ventajas fundamentales a ProteoRed: 1) asistencia y asesoramiento en el desarrollo a nivel interno de ProteoRed y 2) comunicación directa y cooperación con la comunidad proteómica y otras iniciativas científicas mundiales.

En resumen, ProteoRed está completamente operativo y todos los grupos de trabajo desarrollan sus actividades acorde con los planes de acción previstos. Como material suplementario (tabla 1) se relacionan las reuniones y actividades más relevantes desarrolladas.

Se han establecido numerosos contactos con medios de comunicación, revistas y asociaciones relevantes del sector:

Presentación en el Ministerio de Sanidad y Consumo de las Plataformas Tecnológicas de Genoma España, "El Semanal" del periódico "El Mundo" 7 de julio de 2005, "Cinco Días" 5 de Septiembre de 2005.

Existe una fuerte relación de colaboración con la Sociedad Española de Proteómica, SEPROT. En el primer boletín de la Sociedad, aparece un amplio artículo acerca de ProteoRed elaborado por el Coordinador General de ProteoRed, Juan Pablo Albar.

Artículo publicado en la revista "European Pharmaceutical Review", Issue 3, 2005. José M. Mato, Isabel Pérez-Mato, Félix Elortza de CIC BioGUNE y Julio Font de Noray Bioinformatics, S.L.

Artículo-resumen de la presentación de ProteoRed en el HLPP Internacional Workshop Newsletter del HLPP JPalbar, de próxima publicación.

Anuncio en la contraportada (a toda página) del número especial de Proteomics dedicado al 1er Congreso de la SEProt, Marzo de 2006.

Artículo científico en el 1er número de de la revista Practical Proteomics (2006) 1, 73-76, nueva publicación de Proteomics.