

Proteomica nella ricerca di nuovi farmaci

La proteomica consiste nell'identificazione sistematica di proteine e nella loro caratterizzazione rispetto a struttura, funzione, attività, quantità e interazioni molecolari.

Il proteoma è l'insieme di tutti i possibili prodotti proteici espressi in una cellula, incluse tutte le isoforme e le modificazioni post-traduzionali. Il proteoma è dinamico nel tempo, varia in risposta a fattori esterni e differisce sostanzialmente tra i diversi tipi cellulari di uno stesso organismo.

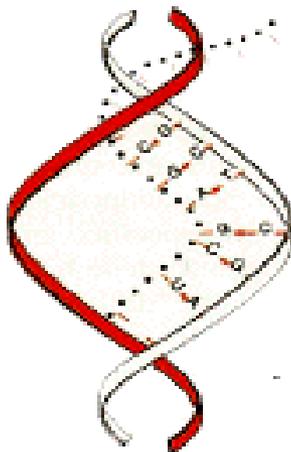
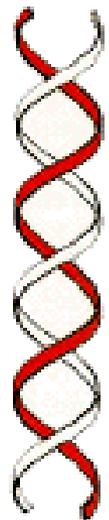
Sintesi proteica

Nel nucleo

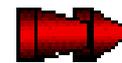
Nel citosol

DNA

Polipeptide



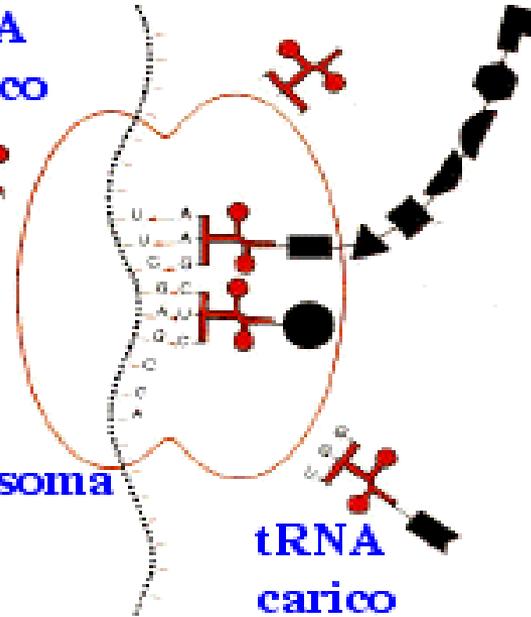
mRNA



tRNA
scarico



Ribosoma



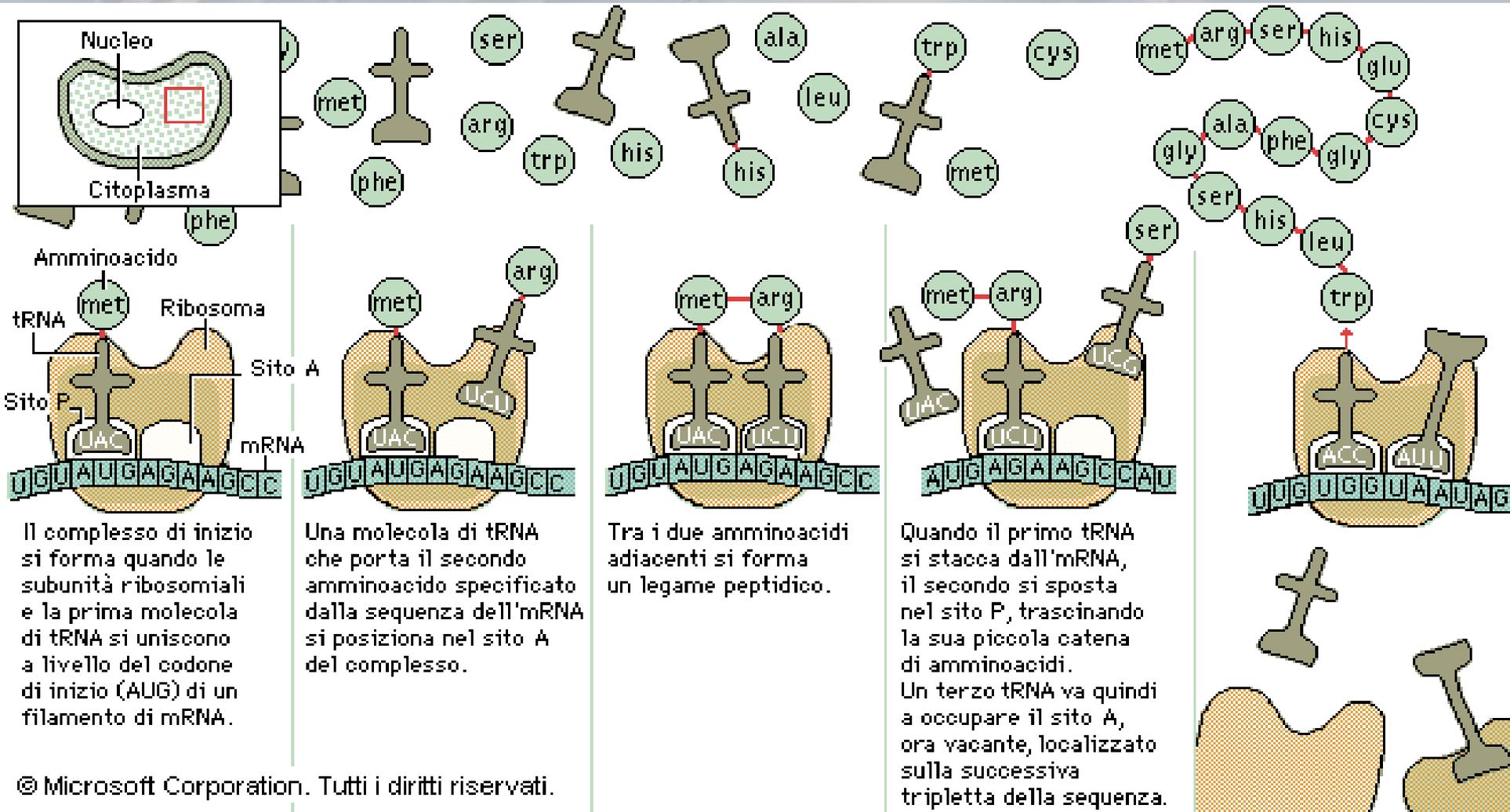
tRNA
carico

Trascrizione

Traduzione

Sintesi proteica - traduzione

Le proteine derivano da un lungo processo, chiamato *sintesi proteica*, che vede la partecipazione del DNA una molecola caratterizzata da unità fondamentale chiamata **gene** il quale è responsabile della trasmissione dei caratteri ereditari. Il compito del gene è quello di codificare un'intera sequenza di amminoacidi. Tuttavia un gene non costituisce direttamente una proteina, il collegamento tra proteine e geni è rappresentato dall'acido ribonucleico (RNA)



Il complesso di inizio si forma quando le subunità ribosomiali e la prima molecola di tRNA si uniscono a livello del codone di inizio (AUG) di un filamento di mRNA.

Una molecola di tRNA che porta il secondo amminoacido specificato dalla sequenza dell'mRNA si posiziona nel sito A del complesso.

Tra i due amminoacidi adiacenti si forma un legame peptidico.

Quando il primo tRNA si stacca dall'mRNA, il secondo si sposta nel sito P, trascinando la sua piccola catena di amminoacidi. Un terzo tRNA va quindi a occupare il sito A, ora vacante, localizzato sulla successiva tripletta della sequenza.

Genoma - Proteoma

Mentre il genoma è la somma complessiva del materiale genetico di un organismo, il **proteoma** è l'insieme delle sue proteine

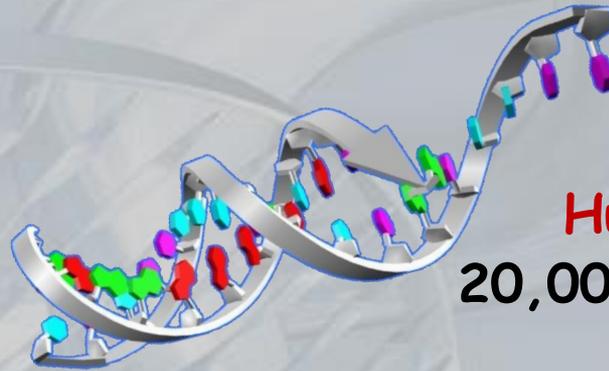
Science

16 February 2001

Vol. 291 No. 5507
Pages 1145-1434 59

THE
HUMAN
GENOME

Science 291, 1221, 2001



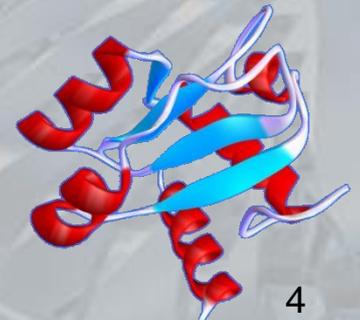
Human Genome

20,000 - 30,000 genes



Human Proteome

100,000 - 1,000,000
protein variants



Proteoma - definizione

nel 1994 Mark Wilkins coniò il termine ***proteoma***, per descrivere l'insieme delle proteine di un organismo o di un sistema biologico, ovvero le proteine prodotte dal genoma.

Si può considerare il **proteoma completo** di un organismo, che può essere immaginato come l'insieme globale delle proteine di tutti i proteomi cellulari.

Questo è, quindi, per analogia, l'equivalente proteico del genoma.

Genoma - Proteoma

Il proteoma mostra almeno due livelli di complessità che mancano al genoma:

1. Mentre il genoma è definito da una sequenza di nucleotidi, il proteoma non si limita alla somma delle sequenze di proteine presenti.

2. la conoscenza del proteoma richiede di conoscere, oltre alle strutture delle proteine del proteoma, anche le **interazioni funzionali** tra le proteine stesse

Di particolare interesse è inoltre il fatto che, a differenza del "genoma", che può essere considerato virtualmente statico, il "**proteoma**" **cambia continuamente**.

Genoma - Proteoma

- ✦ Una delle scoperte più eclatanti della nuova era post-genomica, è che il vecchio paradigma secondo cui un gene codifica per una sola proteina risulta **non essere più valido**
- ✦ Infatti, a causa di **modifiche post-traduzionali** (acetilazione, metilazione, glicosilazione, fosforilazione) delle proteine, ad un genoma possono corrispondere più di un proteoma
- ✦ Il genoma di un essere vivente, anche quando completamente sequenziato, **non permette** di comprendere tutte le funzioni biologiche che caratterizzano un organismo e che dipendono da molteplici fattori, tra i quali le vie regolatorie e metaboliche delle proteine

La variabilità del proteoma.

- **Il Proteoma può variare tra due individui della stessa specie**
- **Il Proteoma in uno stesso individuo può variare nel tempo**
- **Il Proteoma può variare in risposta ai cambiamenti ambientali**

Es: fattori ambientali, stati di stress e alcune malattie come i tumori, provocano drastici cambiamenti nella composizione delle proteine normalmente espresse e come effetto cambiano anche le interazioni proteina-proteina

Dal genoma al proteoma

✦ Genoma vs Proteoma

- Il bruco e la farfalla sono organismi geneticamente identici, ma posseggono diverso proteoma e fenotipo, così come il girino e la rana!



Predizione delle modificazioni post-traduzionali

- ✦ L'ampia varietà di strutture e funzioni proteiche è dovuta, in parte, al fatto che le proteine sono sottoposte ad un'ampia varietà di modificazioni dopo essere state trascritte
 - Rimozione di segmenti della proteina
 - Formazione di legami covalenti alla superficie dei residui con zuccheri, fosfati o gruppi solfati
 - Formazione di legami incrociati tra residui all'interno di una proteina (formazione di ponti disolfuro)
- ✦ Molte di queste modificazioni sono effettuate da altre proteine, che devono riconoscere specifici residui superficiali, appropriati per innescare la modificazione

Proteomica: ambiti di studio

- ✦ La proteomica si rivela, pertanto, complementare alla genomica ed essenziale per la **comprensione dei meccanismi biologici**
- ✦ La proteomica consente lo studio delle proteine, sia nelle forme appena trascritte dai geni sia nelle isoforme o eventuali modifiche post-traduzionali, che possono verificarsi nella cellula dopo la trascrizione



Lo studio delle isoforme o delle modifiche post-traduzionali consente la comprensione dei meccanismi di **interazione tra le proteine**: tali meccanismi ne condizionano l'attività e la funzione

Proteomica: ambiti di studio

- ✦ La proteomica è una scienza che mira ad indagare e a stabilire **l'identità**, la **quantità**, la **struttura** e le **funzioni** biochimiche e cellulari di tutte le proteine presenti in un tessuto, in una cellula o in un comparto sub-cellulare, descrivendo come queste proprietà siano *variabili* nello spazio, nel tempo o in un determinato stato fisiologico (M. Tyers & M. Mann, 2003)

proteomica sistematica

- mira all'identificazione ed alla caratterizzazione del proteoma

proteomica differenziale/ espressione

- Studio dell'espressione differenziale delle proteine in cellule diverse di uno stesso organismo ed in momenti di vita diversi di una stessa cellula

proteomica funzionale o strutturale

- studio delle interazioni tra proteine (interattomica),
- studio delle interazioni tra una proteina ed i suoi substrati (metabolomica)
- studio delle funzioni specifiche delle proteine (genomica enzimatica, genomica biochimica)

Le tre domande principali cui la proteomica tenta di rispondere sono:

1) Quali proteine sono presenti in una cellula o in un tessuto in un dato momento ed in certe condizioni?



**PROTEOMICA
D'ESPRESSIONE**

2) Quali proteine sono sovra o sottoesprese in una cellula o in un tessuto in certe condizioni?



**PROTEOMICA
DIFFERENZIALE**

3) Con quali altri partners molecolari interagisce una specifica proteina?



**PROTEOMICA
FUNZIONALE**

Potenzialità dello studio del proteoma

- ✦ le potenzialità che derivano dalla conoscenza del proteoma di un organismo sono enormi:
 - Comprensione delle basi molecolari di alcune malattie
 - Conversione di cellule in fabbriche molecolari
 - Efficienza degli organismi geneticamente ingegnerizzati
 - Progettazione di nuovi farmaci

Le principali branche della proteomica

❖ Separazione di proteine.

Tutte le tecnologie della proteomica risiedono sulla capacità di separare da una miscela complessa singole proteine in modo che possano essere processate con ulteriori tecniche.

❖ Identificazione di proteine.

Metodi comuni "low-throughput" includono il sequenziamento mediante degradazione Edman. Metodi "high-throughput" sono basati su spettrometria di massa, peptide mass fingerprinting o sequenziamento 'De novo repeat detection'

❖ Quantificazione di proteine.

Esistono metodi basati sul gel con marcatura fluorescente (Cy3, Cy5) (gel elettroforesi differenziale) e metodi "gel-free", che includono metodi di "tagging" o di modificazione chimica, come "isotope-coded affinity tags" (ICATs)

❖ Analisi di sequenza di proteine.

Questa è una branca prettamente bioinformatica, rivolta alla ricerca nelle banche dati, per l'identificazione della proteina o peptide. Da questo tipo di analisi di sequenza possono essere tratte anche informazioni di carattere funzionale ed evolutivo (attraverso il multiallineamento delle proteine).

❖ **Proteomica strutturale.**

Questa parte della proteomica si occupa dello studio tridimensionale delle proteine usando metodi di cristallografia a raggi X e spettroscopia NMR (risonanza magnetica nucleare)

❖ **Studio delle interazioni fra proteine.**

Studio delle interazioni fra proteine a livello atomico, molecolare e cellulare.

❖ **Modificazioni post-traduzionali delle proteine.**

Questa branca della proteomica si occupa dello studio delle modificazioni che le proteine subiscono dopo essere state tradotte. Allo scopo sono stati sviluppati metodi adeguati per studiare la fosforilazione ("fosfoproteomica") e la glicosilazione ("glicoproteomica").

❖ **Proteomica cellulare.**

Nuova branca della proteomica il cui scopo principale è quello di mappare la localizzazione delle proteine e delle interazioni fra proteine nelle cellule durante particolari "eventi-chiave" della vita cellulare. Le tecniche usate fanno capo alla "X-Ray Tomography" e alla microscopia ottica a fluorescenza.

Tecniche sperimentali in proteomica

- ✦ Come nel caso dell'analisi genomica, molte analisi proteomiche sono limitate dalle tecniche sperimentali attualmente disponibili
- ✦ Sfortunatamente, dalla prospettiva della proteomica, la natura stessa delle proteine rende le analisi di laboratorio particolarmente difficili e molto meno precise rispetto a quelle disponibili per l'analisi genomica
 - Elettroforesi bidimensionale
 - Cromatografia (gelpermeation, affinità, ionica, fase inversa)
 - Spettrometria di massa
 - Microarray proteici

Elettroforesi bidimensionale

- ✦ Il risultato finale è un gel in cui virtualmente ciascuna proteina occupa un punto nello spazio bidimensionale, ed è evidenziabile attraverso opportune colorazioni
- ✦ La tappa ultima consiste nell'isolamento dal gel di ciascuna proteina per effettuare l'analisi che ne consenta l'identificazione
- ✦ L'analisi può essere fatta in maniera manuale, ritagliando dei tondini di gel contenenti una sola proteina e quindi procedendo con la spettrometria di massa, o attraverso tecniche automatiche (più o meno evolute) di lettura diretta da gel

Elettroforesi bidimensionale

I Dimensione - Isoelettrofocusing

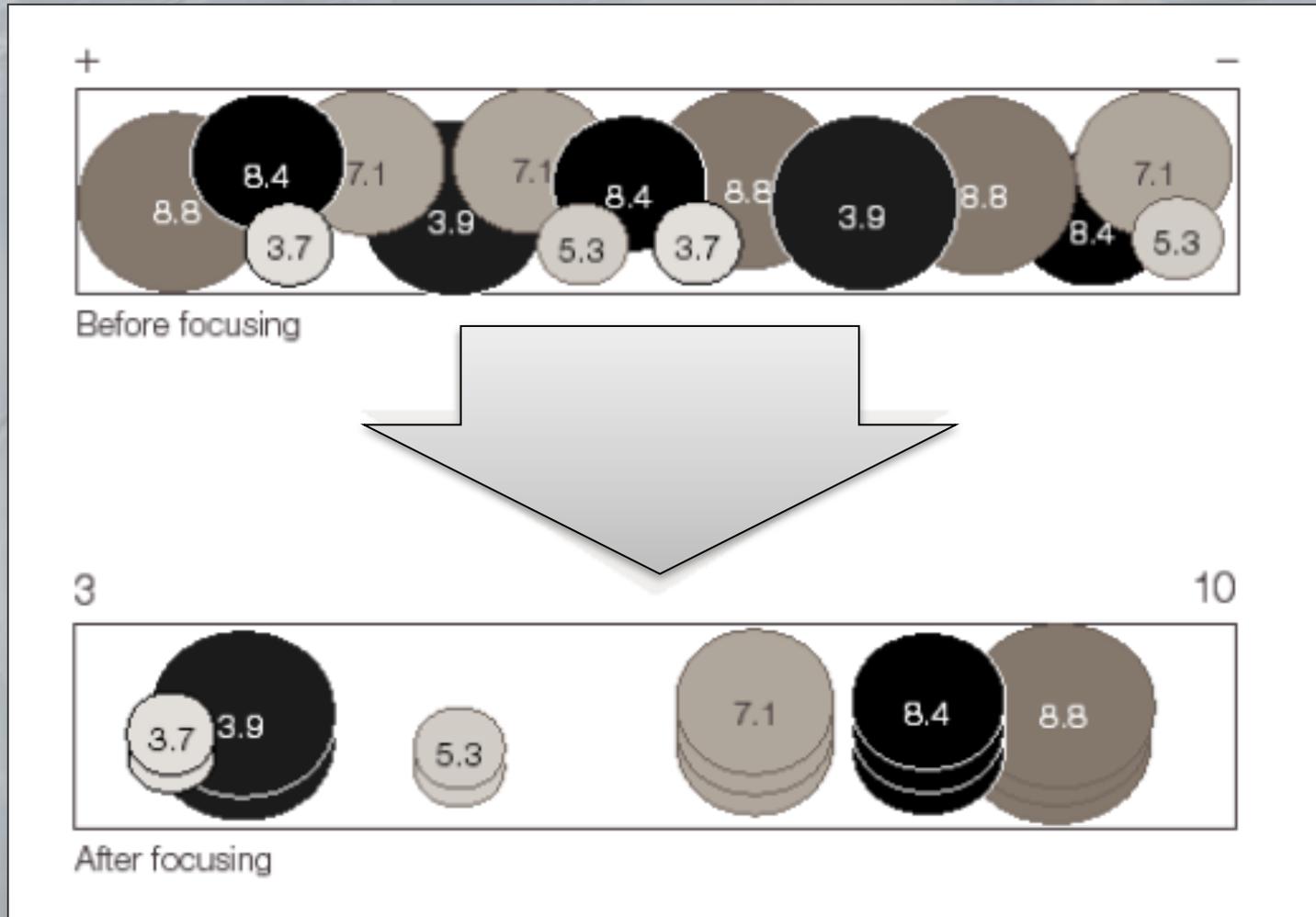
La *prima dimensione* utilizza solitamente **un gradiente di pH** ottenuto grazie a molecole anfotere che sono fatte migrare all'interno di un supporto, costituito in genere da un gel di poliacrilammide, posto in un campo elettrico.

Il campo elettrico applicato fa sì che le proteine, presenti in forma ione, si muovano fino a raggiungere il proprio punto isoelettrico, al quale, ogni molecola si trova sotto forma di zwitterione a carica complessiva pari a zero. Il processo descritto prende il nome di isoelettrofocalizzazione (IEF o *isoelectrofocusing*)



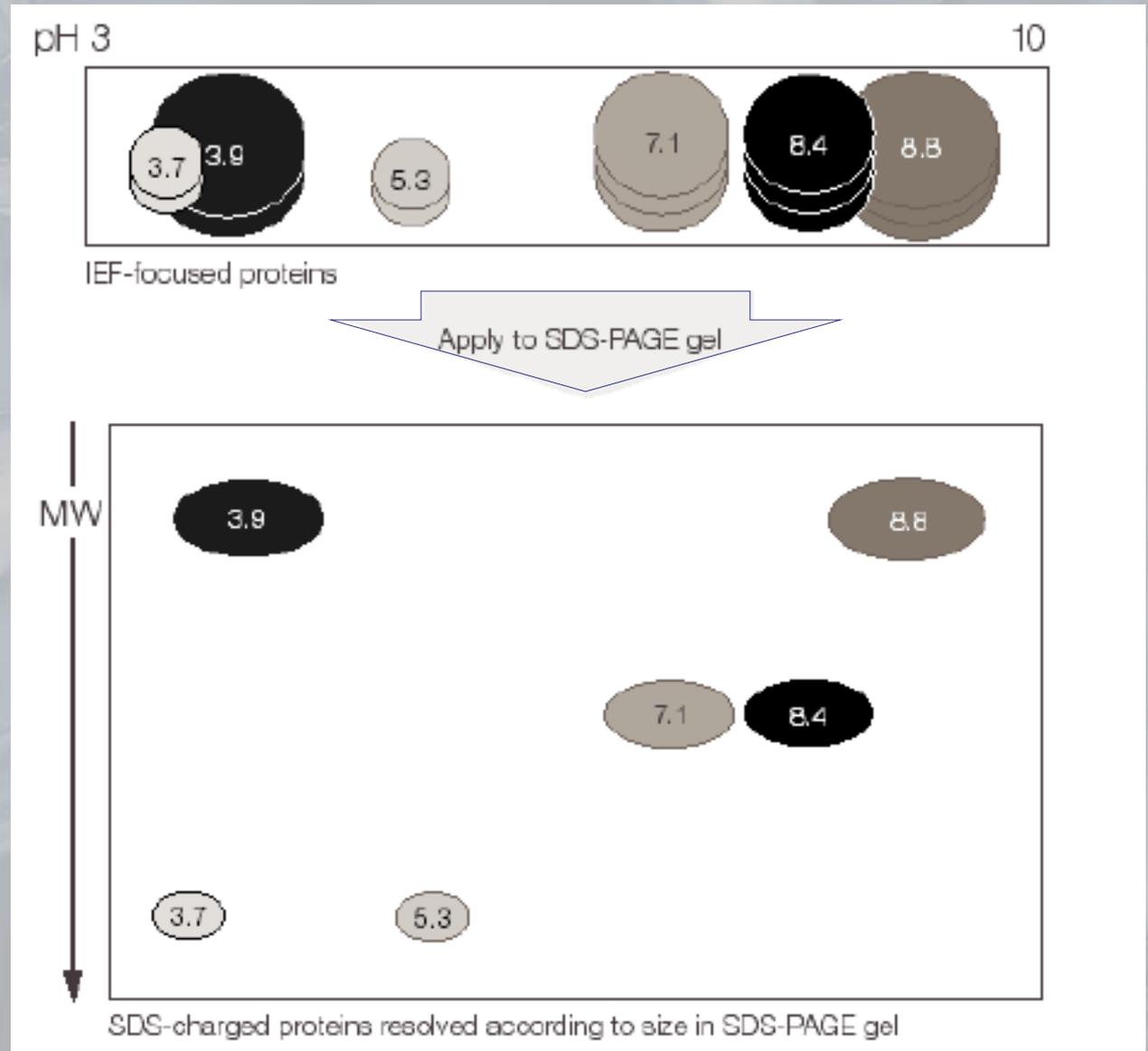
I Dimensione - Isoelettrofocusing

Tutti i polipeptidi di una determinata specie si concentreranno o focalizzeranno in un zona estremamente ristretta, questa caratteristica rende la IEF una tecnica ad elevata risoluzione

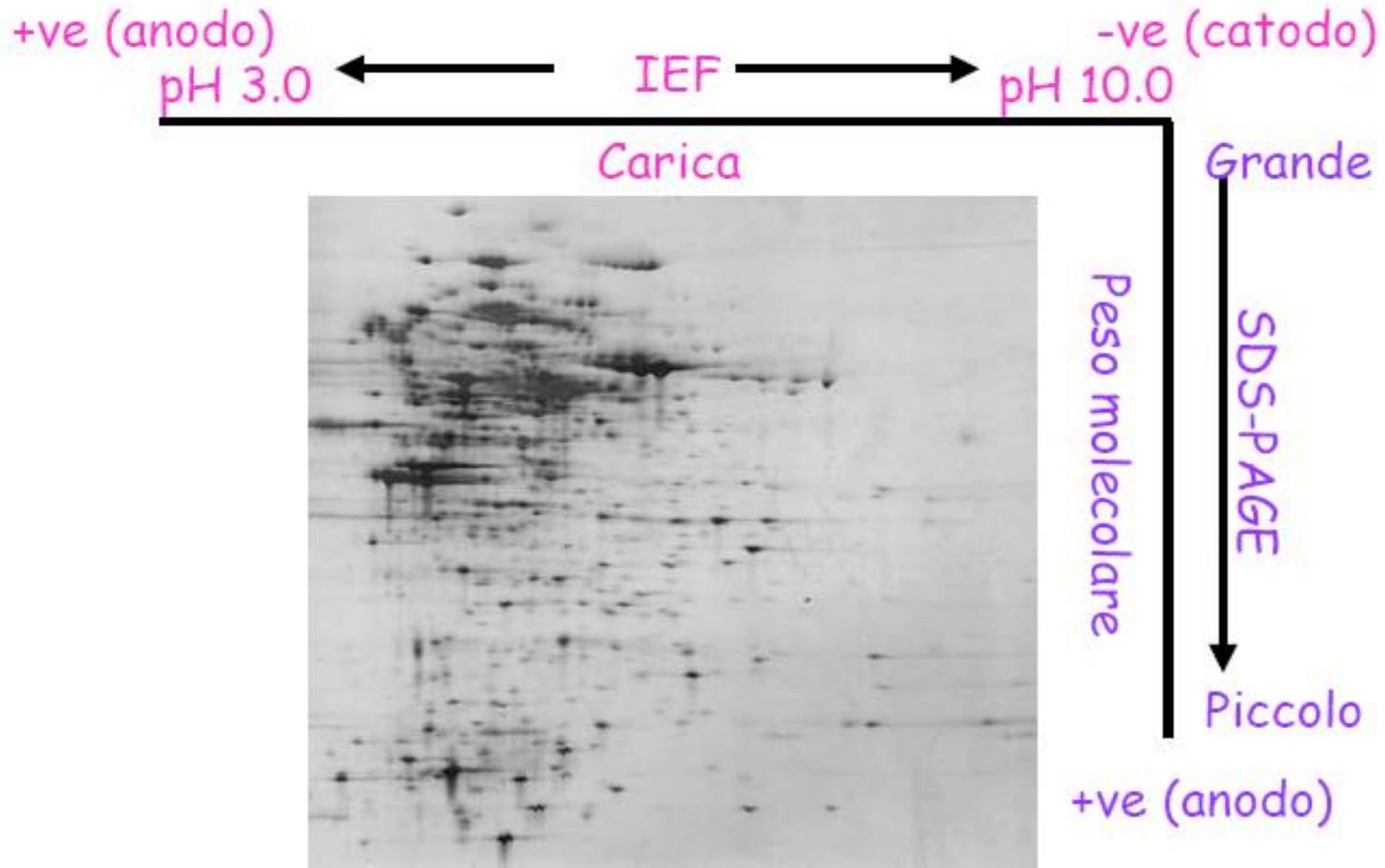


II Dimensione: SDS-PAGE

Durante la *seconda dimensione* il campione viene trattato con **SDS** (sodio dodecilsolfato) per conferire a tutte le proteine una carica elettrica netta negativa. Segue quindi una classica SDS-PAGE in cui le specie proteiche si dividono in funzione del loro peso molecolare. Le proteine sono infine evidenziate mediante colorazione, utilizzando ad esempio il blu di Coomassie o il nitrato d'argento.

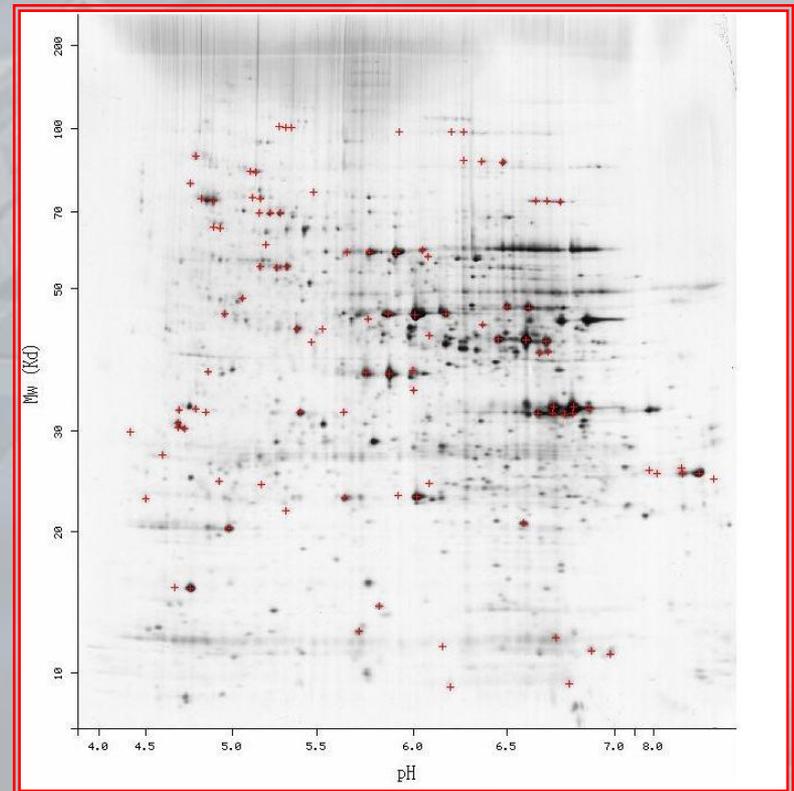


PRINCIPIO DELL'ELETTROFORESI BIDIMENSIONALE



Elettroforesi bidimensionale

- ✦ In pratica, si considera una cellula o un tessuto e, usando le tecniche indicate, si ottengono, con una sola analisi, informazioni su tutte le proteine che compongono il campione
- ✦ Con l'elettroforesi bidimensionale si ottengono fotografie in cui ogni puntino rappresenta una proteina
- ✦ **Confrontando fotografie ottenute da campioni diversi si possono individuare quali proteine differiscono per presenza e quantità in diverse condizioni sperimentali**



Elettroforesi bidimensionale

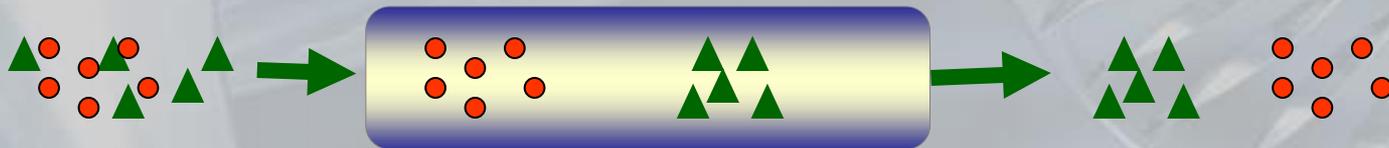
limiti e svantaggi

- ✦ L'elettroforesi bidimensionale ha in realtà diverse gravi limitazioni che ne impediscono l'utilizzo estensivo
 - Il genoma umano codifica molte decine di migliaia di proteine
 - Inadeguatezza per l'analisi delle proteine molto piccole o con poca carica elettrica e delle proteine che attraversano la membrana plasmatica (e che rivestono importanti ruoli in molte malattie) a causa della loro scarsa solubilità nelle preparazioni e nei gel
 - **Sensibilità** relativamente **bassa** dei metodi di rilevamento
 - Difficoltà nel determinare con precisione quale proteina è rappresentata da ciascuno spot

Cromatografia

Il termine *cromatografia* indica un insieme di tecniche che hanno lo scopo di separare una miscela nei suoi componenti, per permetterne il riconoscimento **qualitativo** e **quantitativo**

Queste tecniche sono basate sulla distribuzione differenziale dei vari componenti fra due fasi, una chiamata *fase fissa* o *fase stazionaria* e l'altra chiamata *fase mobile* o *eluente*, che fluisce in continuo attraverso la fase fissa



Basi del procedimento cromatografico

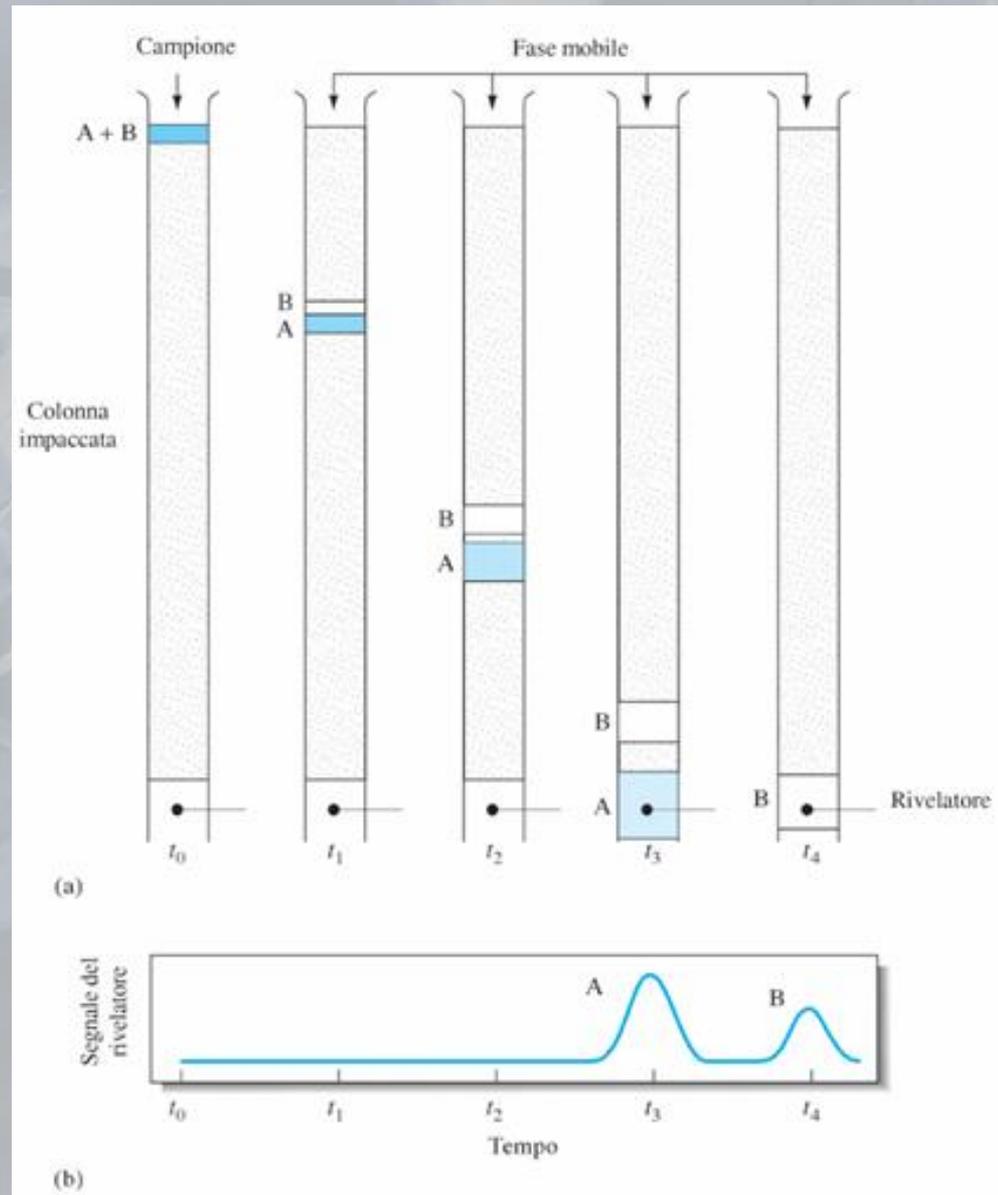
- il campione è introdotto nella fase mobile, che può essere un gas, un liquido o un fluido supercritico
- la fase mobile viene fatta eluire in continuo attraverso la fase stazionaria, che deve essere immiscibile nell'eluyente
- la fase mobile e la fase stazionaria sono scelte in modo che i componenti della miscela da separare si distribuiscano tra le due fasi
 - i componenti più affini alla fase stazionaria passeranno più tempo in questa fase, quindi si sposteranno più lentamente attraverso il sistema
 - i componenti più affini alla fase mobile si sposteranno invece più velocemente
- la separazione dei componenti avviene in quanto ogni sostanza ha una distribuzione caratteristica tra le due fasi (costante di ripartizione $K_d = C_s / C_m$)

Visualizzazione della separazione

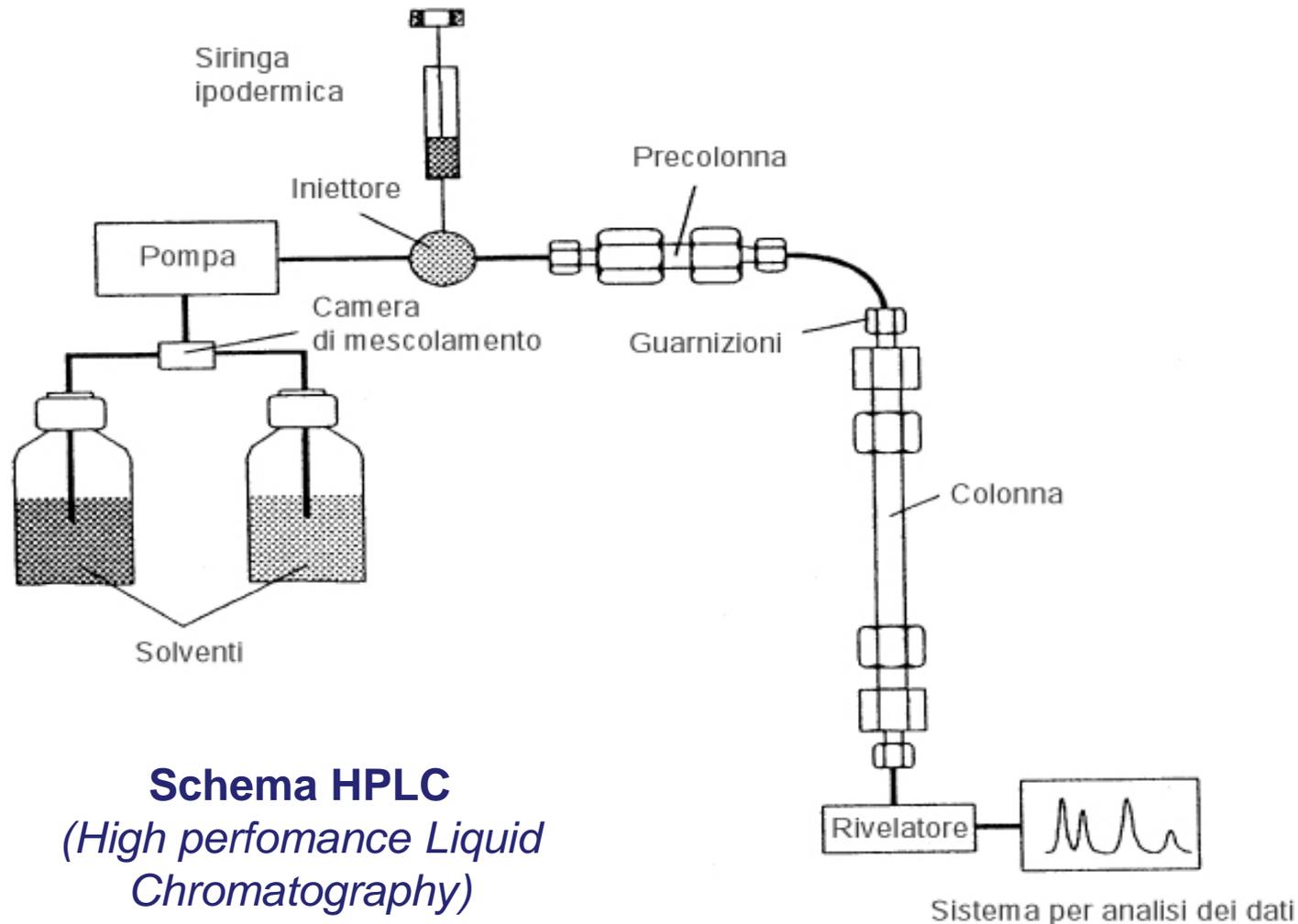
Ponendo all'uscita della colonna un rivelatore che misuri la concentrazione del soluto nell'eluato (cioè la fase mobile che esce dalla colonna) e riportando il segnale in funzione del tempo si può ottenere un cromatogramma

La posizione dei picchi sull'asse dei tempi, o **tempo di ritenzione**, serve per **identificare** i componenti del campione

L'**area** sottesa dai picchi è proporzionale alla quantità di ogni singolo componente e può essere utilizzata a **scopo quantitativo**



Cromatografia Liquida ad Alte Prestazioni (HPLC)



Meccanismi della separazione

In base ai tipi di interazione prima descritti possiamo suddividere i meccanismi di separazione impiegati in cromatografia in:

- adsorbimento
- ripartizione
- scambio ionico
- esclusione
- affinità

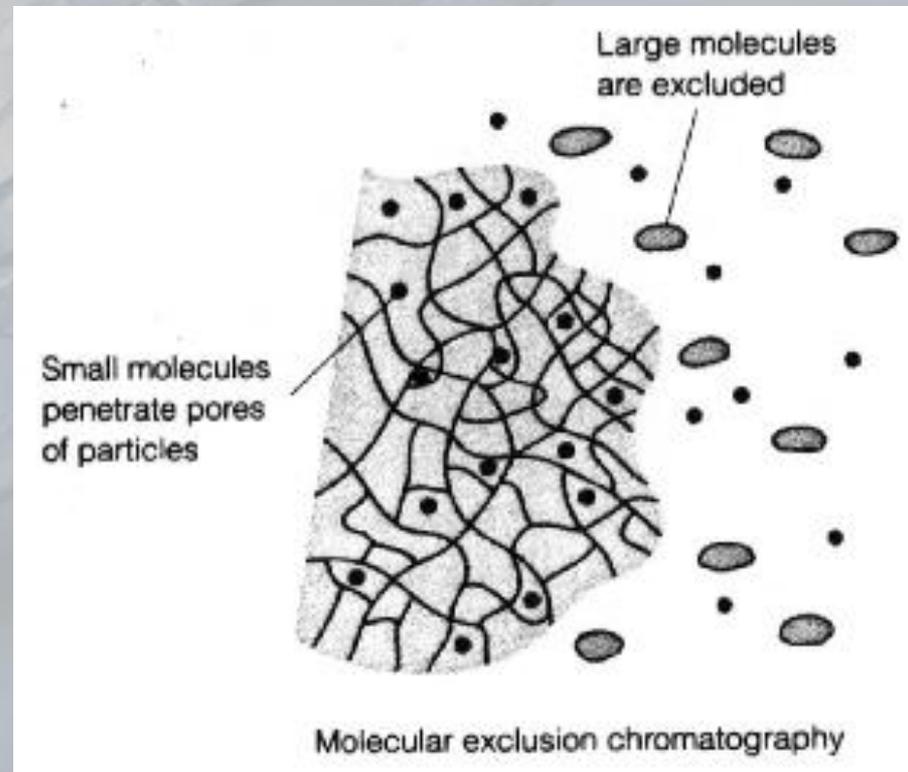
Esclusione dimensionale

Size exclusion chromatography (SEC)

La fase stazionaria è un solido poroso o un gel. Le molecole dell' analita, disciolte nella fase mobile, penetrano nei pori se le loro dimensioni sono compatibili e vi rimangono per un certo tempo; le molecole più grandi sono invece escluse dai pori ed escono dalla colonna in tempi brevi

Si parla di ***cromatografia di esclusione dimensionale (SEC=size exclusion chromatography)*** con le varianti *Gel permeazione* per la separazione di sostanze insolubili in acqua e *Gel filtrazione* per la separazione di sostanze solubili in acqua

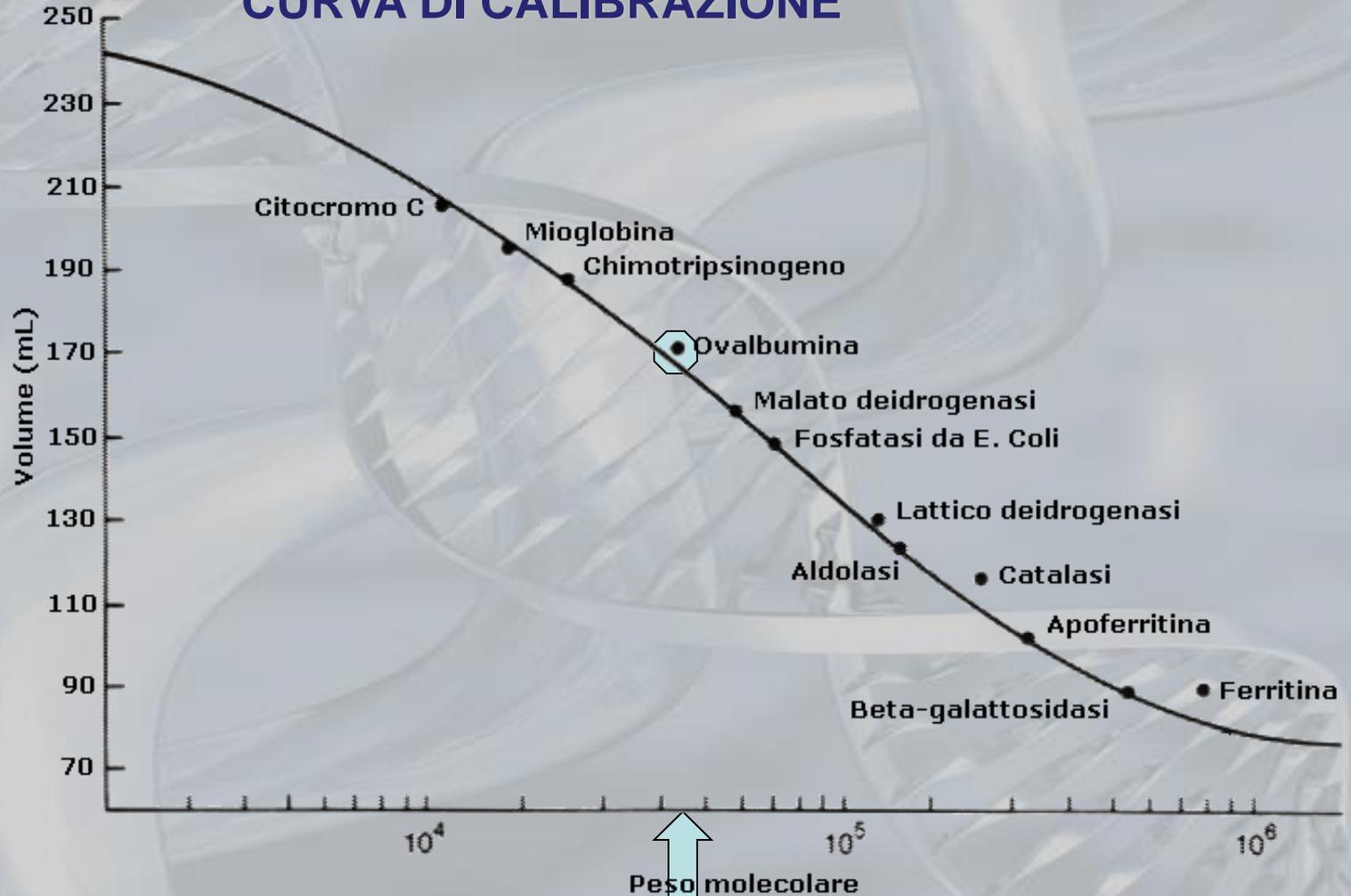
La tecnica è impiegata per la separazione di molecole di grandi dimensioni



Determinazione peso molecolare

CURVA DI CALIBRAZIONE

Una proteina sconosciuta eluisce a 170 mL:



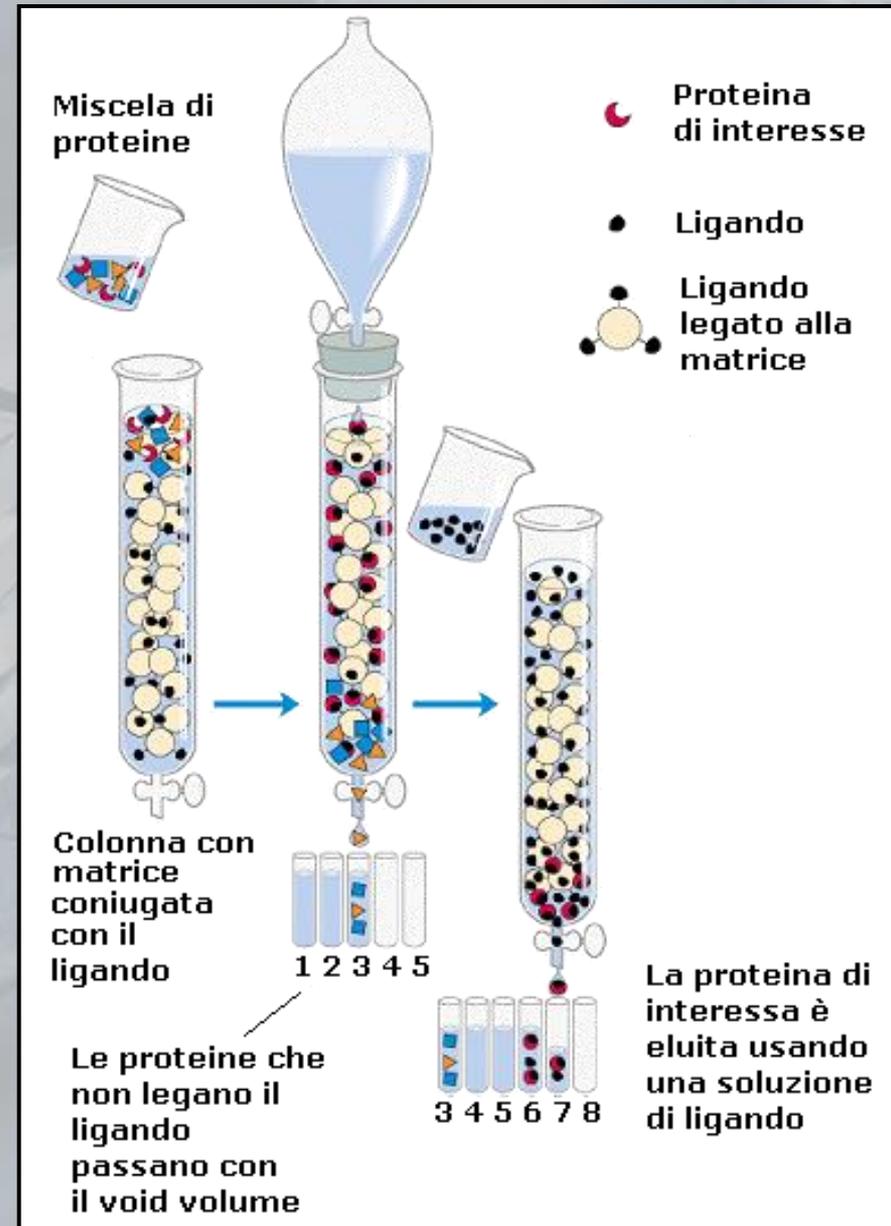
40,000 Da (40KDa)

Cromatografia di affinità

- Un ligando ad alta affinità per la proteina è legato alla matrice
- La proteina di interesse si lega al ligando e viene immobilizzata sulla colonna
- Le altre proteine vengono “lavate” via.
- La proteina di interesse viene eluita usando una soluzione di ligando.



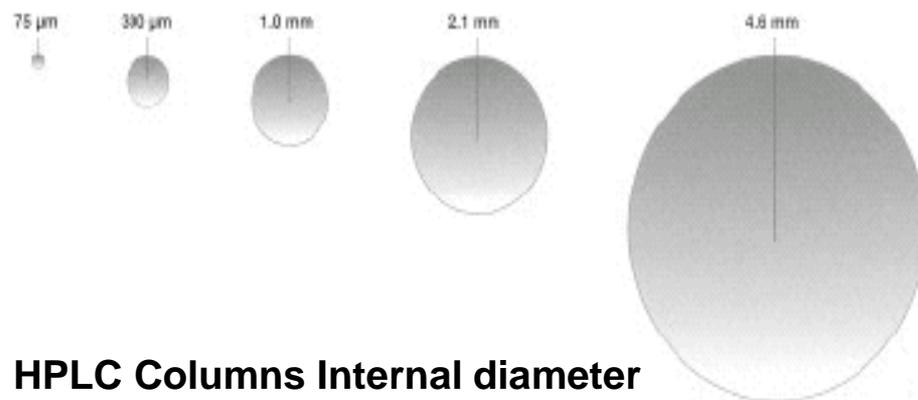
- **Purificazione proteina**



Tecniche miniaturizzate

Why small scale HPLC? micro-cap-nanoHPLC

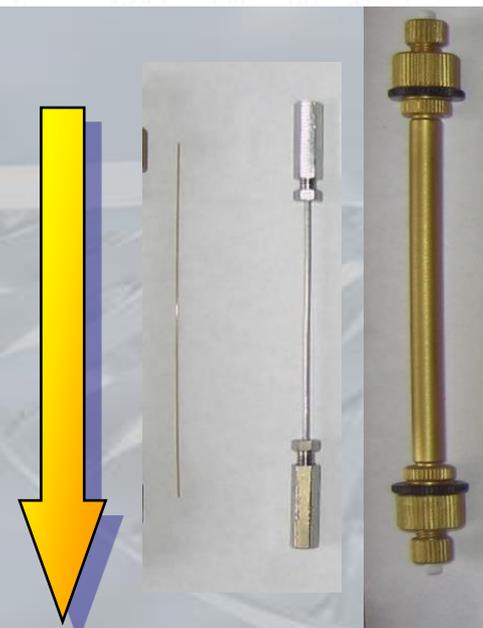
- Higher solute concentration
- Lower detection limit
- Superior LC-MS interfacing
- Perfect for handling minute and/or dilute samples
- Minimal sample loss



Nomenclature	Column I.d.	Flow Rate	Sample Capacity
Conventional LC	4.6 mm	1,000 µL/min	1–200 µg
Narrowbore LC	2.1 mm	200 µL/min	2–50 µg
Micro LC	1.0 mm	40 µL/min	0.05–10 µg
Capillary LC	300 µm	4 µL/min	1 ng–1 µg
Nano LC	75 µm	200 nL/min	0.02 ng–0.05 ng

Required Amount of Protein/Peptide in Microcolumn Separations

Conventional LC	~ 10,000 fmoles
Micro LC	~ 1,000 fmoles
Capillary LC	~ 100 fmoles
Nano LC	~ 1 fmoles



Tecniche miniaturizzate

Capillary HPLC as a powerful tool in drug discovery

Drug/target macromolecule
interaction studies
(proteins, enzyme, receptors)

*Immobilization of
ligand/macromolecule
on capillary columns*

*High Performance
Affinity
Chromatography
(HPLAC)*

PROTEOMIC
STUDIES

- *characterization of proteins*
- *post-traslational modifications studies*

*Multidimensional LC
– Mass
spectrometry*

Spettrometria di massa – 1

- ✦ In uno spettrometro di massa possono essere introdotti campioni allo stato solido, liquido o gassoso
- ✦ Le sostanze solide o liquide devono essere rese **volatili** prima di iniziare la fase di ionizzazione in cui la molecola del composto viene ionizzata, nel caso più comune per interazione con un fascio di elettroni

Spettrometria di massa – 2

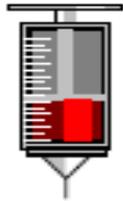
- ✦ Lo ione molecolare carico positivamente si frammenta, con formazione di molecole e di ioni positivi (cationi)
 - Solo questi ultimi sono rivelati dallo spettrometro e sono separati in funzione del loro rapporto massa/carica (m/z)
 - Infatti, i percorsi dei frammenti proteici (all'interno di un analizzatore) vengono fatti deviare da un campo magnetico
 - ✗ La collisione degli ioni carichi positivamente con un collettore posto all'estremità dell'analizzatore genera una corrente elettrica che può essere amplificata e rilevata come una serie di picchi corrispondenti ad un'impronta digitale della massa dei peptidi (*mass fingerprint*)
 - In questo modo è possibile anche individuare l'esistenza di isotopi e determinarne la massa

Spettrometria di massa – 3

- ✦ Nel grafico di uno spettro di massa, l'asse delle x riporta i valori di rapporto massa/carica e l'asse delle y i valori di abbondanza relativa degli ioni analizzati
- ✦ Se la risoluzione dello strumento è sufficientemente elevata, è possibile determinare la massa esatta dei singoli ioni, da cui si può dedurre la composizione elementare dello ione stesso
- ✦ Lo spettrometro di massa può essere direttamente interfacciato ad un sistema di separazione (cromatografo); miscele complesse di prodotti possono quindi essere risolte nei singoli componenti ed i singoli spettri possono essere interpretati o confrontati con librerie standard di spettri di composti noti

Spettrometria di massa

I componenti dello spettrometro



Sorgente

*Volatilizza e
ionizza il
campione*



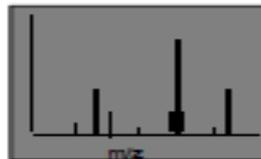
Analizzatore

*Misura il rapporto m/z
degli ioni prodotti*



Detector

Rivela gli ioni

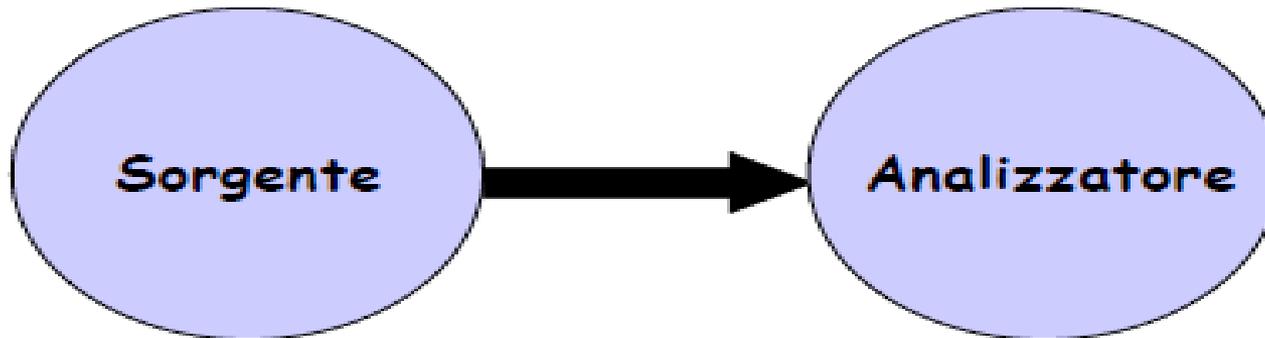


Spettro



Computer

Spettrometria di massa



Sorgenti:

- Sorgente **EI** (impatto elettronico)
- Sorgente **CI** (ionizzazione chimica)
- Sorgente **FAB** (fast atom bombardment)
- Sorgente **electrospray**
- Sorgente **MALDI** (Matrix Assisted Laser Desorption and Ionization).

Analizzatori:

- Analizzatore **magnetico**
- Analizzatore a **quadrupolo**
- Analizzatore a **trappola ionica** (ion-trap)
- Analizzatore **TOF** (time of flight - tempo di volo)

Meccanismi di ionizzazione

- Espulsione di e^- : $M \longrightarrow M^+ + e^-$
- Protonazione: $M + H^+ \longrightarrow MH^+$
- Cationizzazione: $M + Cat^+ \longrightarrow M Cat^+$
- Deprotonazione: $MH \longrightarrow M^- + H^+$

Matrix Assisted Laser Desorption Ionization (MALDI)

Il desorbimento mediante laser permette di ottenere ioni in fase gassosa.

Le pulsazioni provenienti da un laser a sono focalizzate sulla superficie del campione solido.

Le pulsazioni estraggono materiale dalla superficie e creano un microplasma di ioni e di molecole neutre che possono reagire tra di loro in fase vapore.

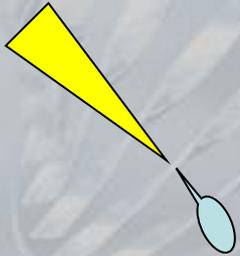
Le pulsazioni laser sono in grado sia di **vaporizzare** sia di **ionizzare** il campione.

Principi operativi

I passaggio: il composto è mescolato ad una matrice che assorbe intensamente la lunghezza d'onda del laser. La miscela è asciugata e qualunque solvente rimosso. Ne risulta una soluzione solida costituita da analita e cristalli di matrice.

II passaggio: le pulsazioni estraggono la soluzione solida ed inducono il riscaldamento della soluzione e la sublimazione della matrice. Una certa energia è trasferita alle molecole di analita che si ionizzano.

Sorgenti: MALDI

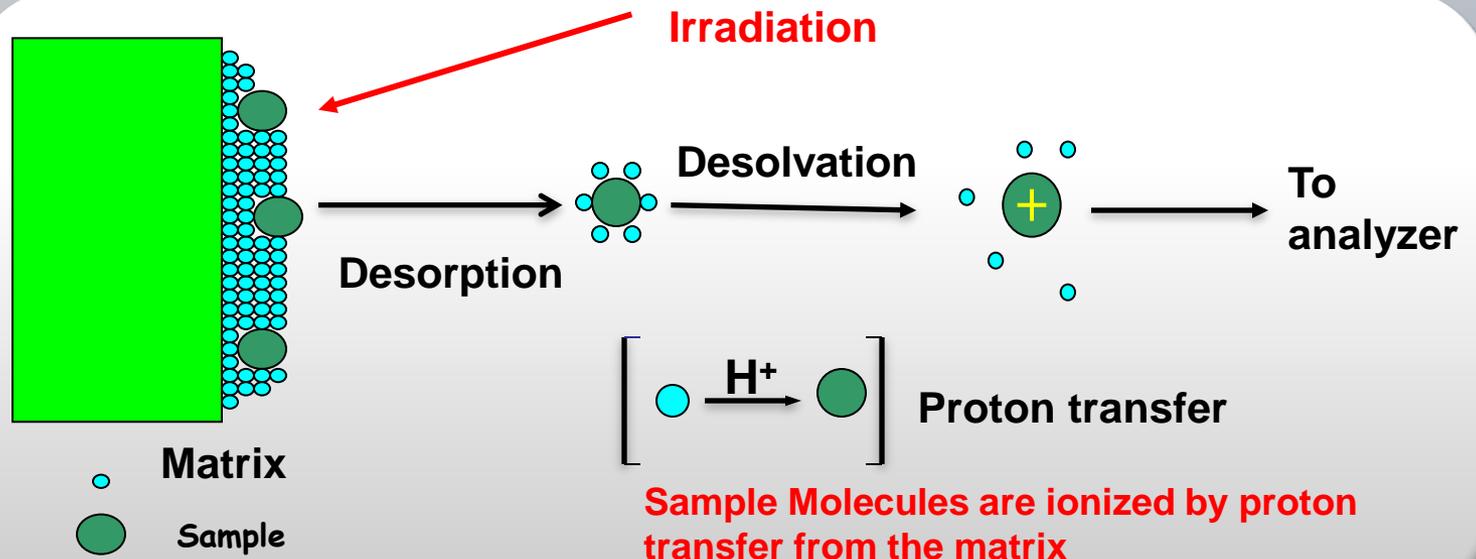


1. Sample is mixed with matrix and dried on a sample plate

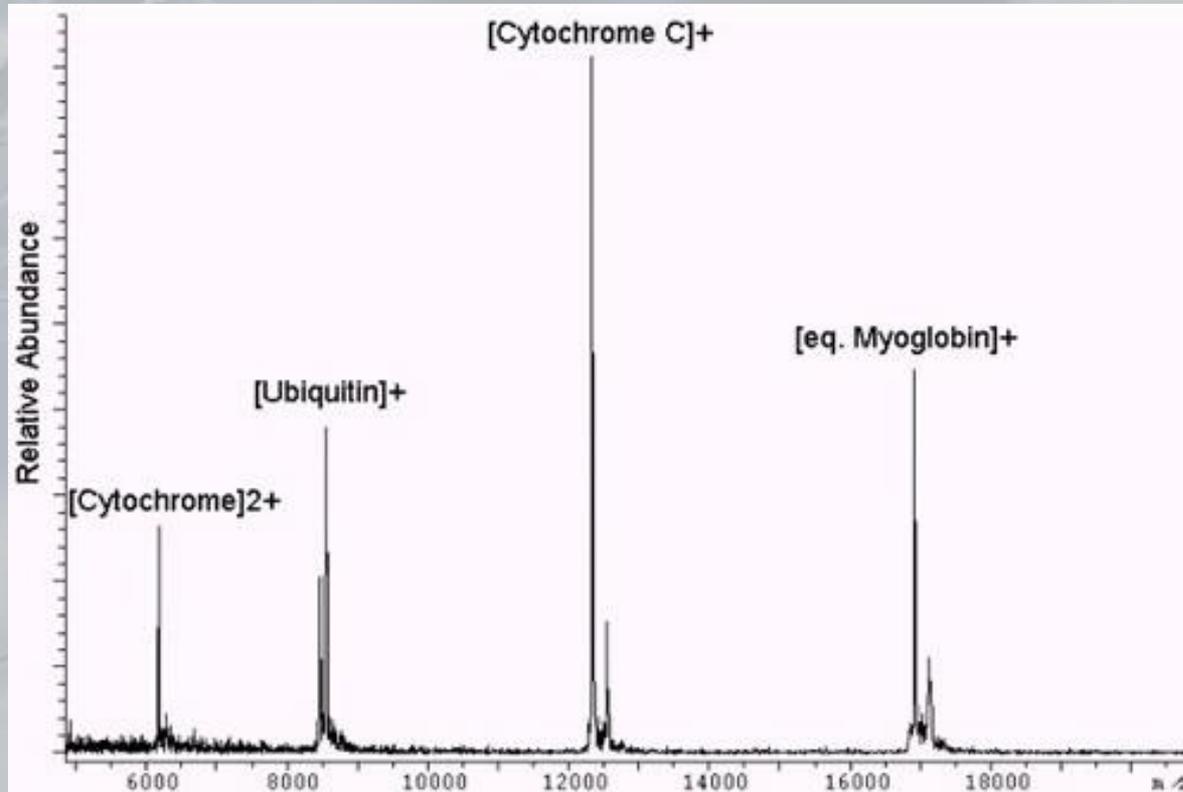


2. Sample plate is introduced into MALDI source

3. Sample spot is irradiated with laser



Spettro di massa MALDI



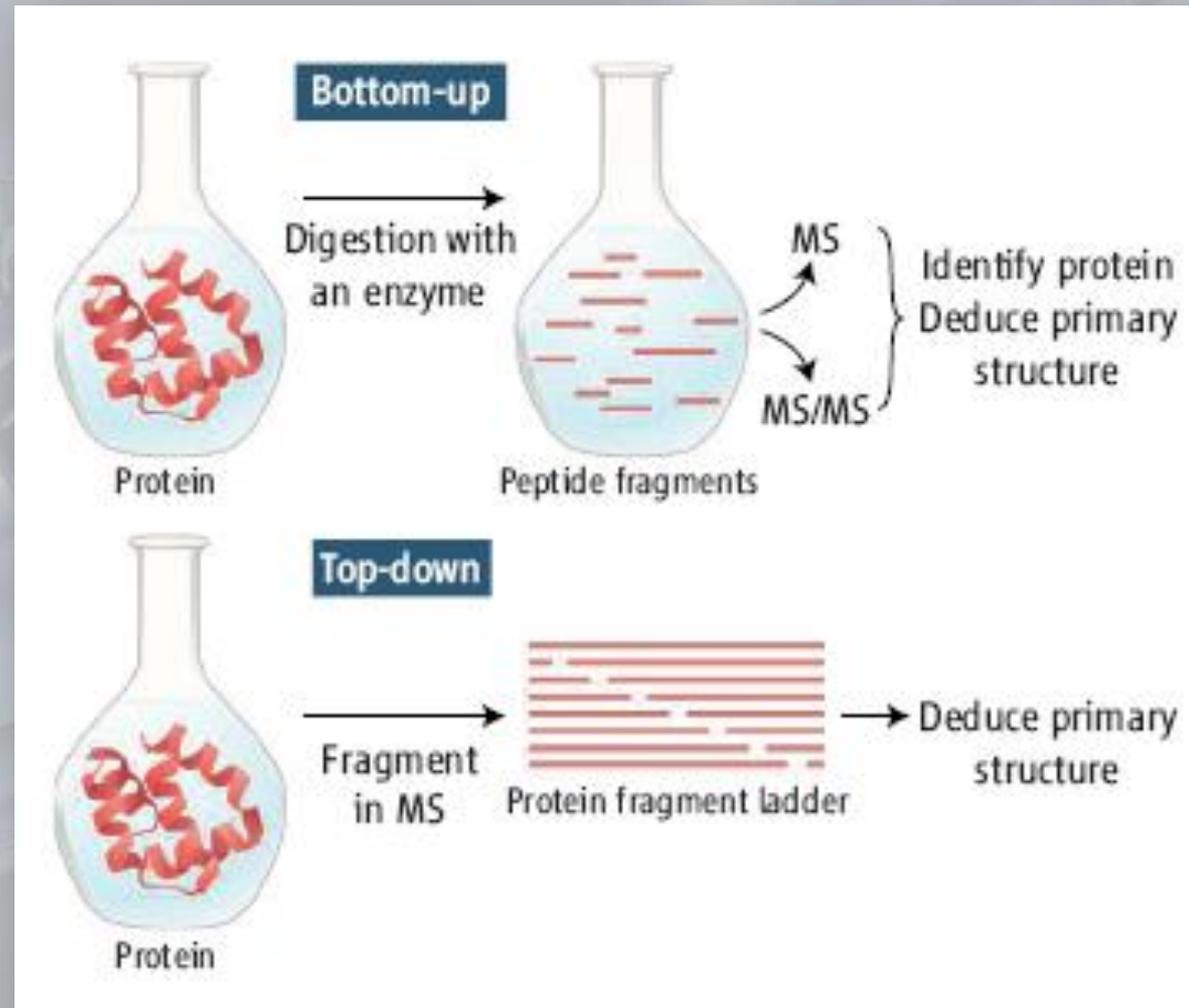
MALDI TOF mass spectrum of a mixture of ubiquitin, cytochrome C and equine myoglobin using 2,5-dihydroxybenzoic acid (DHB) as the matrix. Also shown is the doubly charged species of cytochrome C

- Il MALDI permette il desorbimento e la ionizzazione di analiti ad altissimo PM (>100000 Da).
- E' usato nell'analisi di proteine ad alto PM, polimeri e biopolimeri.

Spettrometria di massa in proteomica

- Le proteine intere sono più difficili da analizzare in uno spettrometro di massa, e la misura della massa di una proteina intera dà informazioni limitate.
- La maggior parte degli approcci in proteomica coinvolgono un processo di frammentazione delle proteine in piccoli pezzi che sono analizzati per identificare la proteina.
- Comunemente le proteine vengono digerite con degli enzimi, come la tripsina, in peptidi.
- I peptidi vengono analizzati per determinare la loro massa. L'intero set di masse osservate generalmente appartiene ad una singola proteina. Ma ogni singola massa di un peptide può essere prodotta da differenti proteine. L'identificazione delle proteine avviene mediante la combinazione delle masse osservate.

Mass spectrometric strategies for the structural characterization of proteins

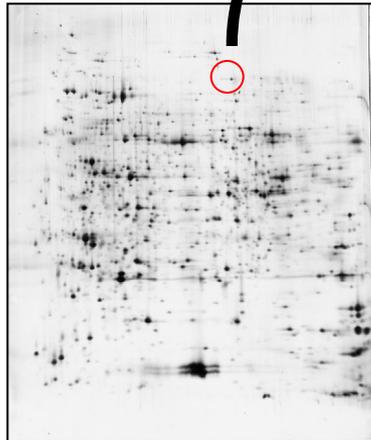


✓ Bottom-up approach

✓ Top-down approach

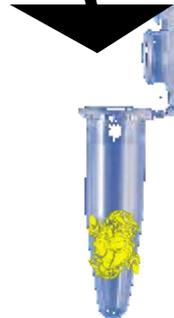
Applicazione: Peptide Mass Fingerprinting (PMF)

1D or 2D gel
silver-stained

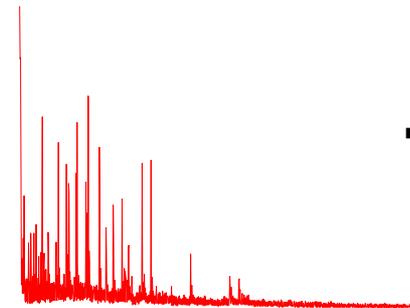


Run gel,
stain

MALDI-TOF



Excise spot,
destain, wash,
digest, extract
peptides



Spot onto plate and
mass analyze

Protein ID

MS-Fit Search Results

Sample ID: (selected) a [selected] data from [selected] with automatic peak detection [selected] plus
Database searched: SwissProt/AS
Molecular weight search: (2000 - 10000) Da; select 65304 entries
pI range: 4.013 entries
Combined molecular weight and pI search select 65304 entries
MS/MS search select 1026 entries (total: 65304 + 1026)

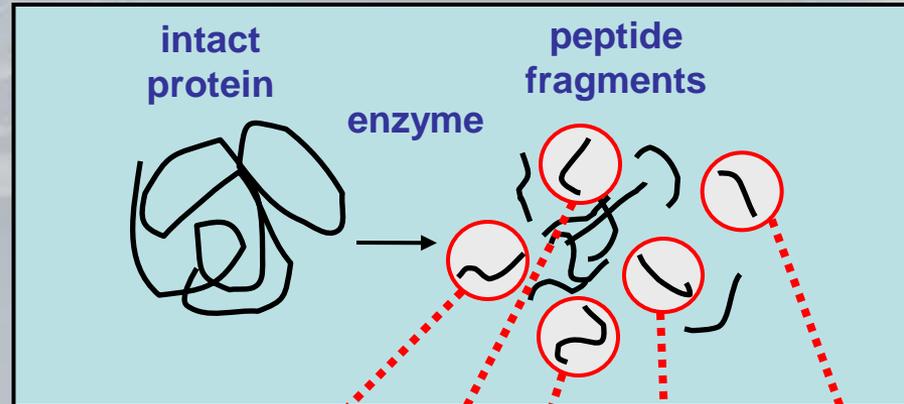
Combined coefficients: Peptide N-terminal Cys to pyroCys (Outlines of M) (Therian N-terminus Acetylated)
Min # Peptides Input # Peptide Mass Peptide Masses Digest Mass # Missed Cleavages Peptide
to Match Peptide Masses Tolerance (%) aa Tm'd Modified # enzymes
4 36 10000 ppm. maximum/1000 Tryptic 1 acetylation. 10/10000 1

Result Summary

Rank	MOBIKE Score	# Pept Matched	Protein MW (Da)	SwissProt ID Accession #	Species	Protein Name
1	3.05e+005	1136 (90%)	97368.8	P08689	HABT	GLYCOSYL PHOSPHATYLASE, MF 2.4.1.1 (MOTPHOSPHATYLASE)
2	6.27e+004	1036 (81%)	97368.8	P08617	HUMAN	GLYCOSYL PHOSPHATYLASE, MF 2.4.1.1 (MOTPHOSPHATYLASE)
3	2.57e+003	706 (57%)	97374.0	P08611	RAT	GLYCOSYL PHOSPHATYLASE, MF 2.4.1.1 (MOTPHOSPHATYLASE)
4	584	836 (62%)	45891.6	C08905	CABEL	GTP-BINDING PROTEIN COP-1

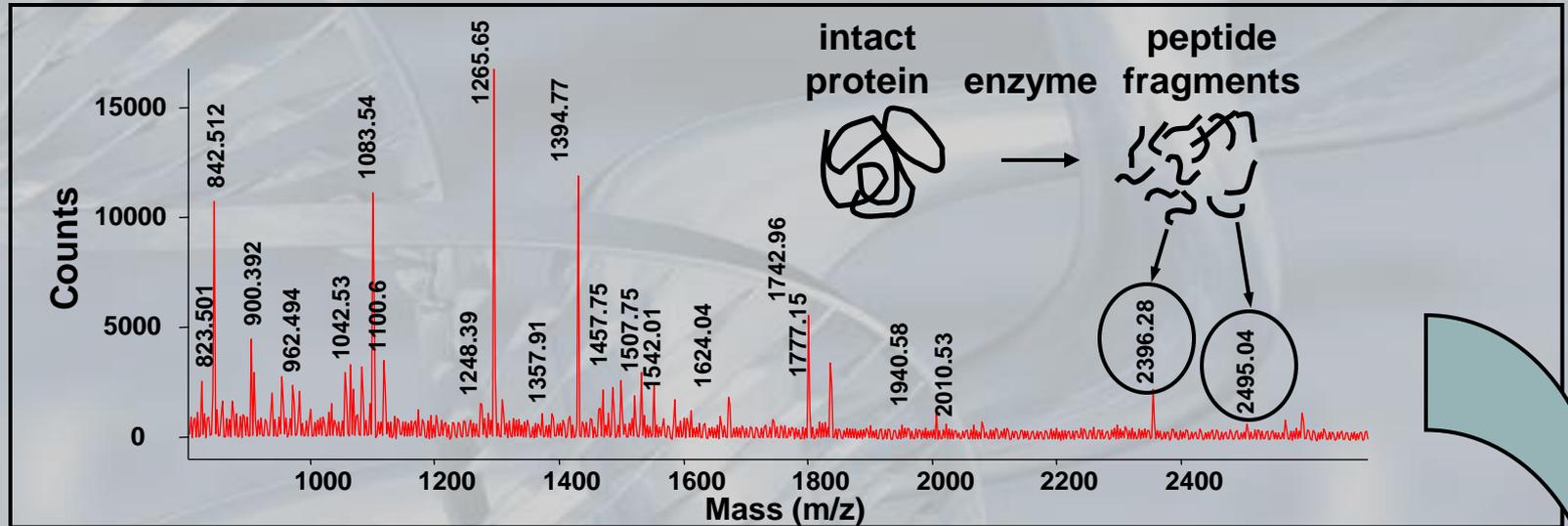
Search all spectra
against protein
databases

Peptide Mass Fingerprinting (MS)



MEMEKEFEQIDKSGSWAAIYQDIRHEASDFPCRVAKLPKKNRNRNRYRDVS
PFDHSRIKLHQEDNDYINASLIKMEEAQRSYILTQGPLPNTCGHFWEMVW
EQKSRGVVMLNRYMEKGSCLKCAQYWPQKEEKEMIFEDTNLKLTLISEDIK
SYTVRQLELENLTTQETREILHFHYTTPDFGVPE[↓]SPASFLNFLFKVRE
SGLSPEHGPVVVHCSAGIGRSGTFCLADTCLLLMDKRRKDPSSVDIKKVL
LEMRFMRMGLIQTADQLRFSYLAVIDGAKFIMGDSSVQDQWKELSHEDLE
PPPEHIPPPRPPKRILEPHNGKCREFFPNHQVWKEETQEDKDCPIKEEK
GSPLNAAPYGIESMSQDTEVRSRVVGGSLRGAQAASPAKGEPSSLPEKDED
HALSYWKPFLVNMCVATVLTAGAYLCYRFLFNSNT

Peptide Mass Fingerprinting



Process data and peak detect spectrum

Create mass list from spectrum

...
900.3921
1083.5423
1265.6489
1394.7688
1507.7522
1542.0116
1777.1544
...

RICERCA DI BIOMARKERS: *Metodica di indagine*

