

Creación en el Instituto de una Unidad de Espectrometría de Masa (UEM-IBR)

Dr. Germán Rosano, Dr. Eduardo Ceccarelli

1. Fundamentos:

Recientemente, nuestro Instituto ha incorporado un espectrómetro de masa de tecnología Orbitrap, modelo Q Exactive HF en conjunto con otros equipos necesarios para su correcto funcionamiento. Este instrumental accesorio incluye un nanoHPLC Ultimate3000 completo con sistema de inyección automatizada, un generador de nitrógeno, un sistema de estabilización y respaldo energético para toda la sala y dos computadoras de alta performance. Una de estas máquinas posibilita el manejo de todos los equipos y otra se encuentra dedicada al procesamiento de datos. El sistema fue adquirido con un subsidio PME2015 en el cual el Dr. Eduardo Ceccarelli es el Director. El Dr. Germán Rosano tuvo activa participación en la redacción de la propuesta original y en la actual instalación y puesta en marcha del equipamiento.

El equipo se encuentra en un espacio especialmente preparado en la sala de instrumental del piso 1, con ambiente controlado y de acceso restringido. Actualmente está en funcionamiento en las últimas etapas de su calibración.

La inversión realizada para la compra de dicho equipamiento, excluyendo los gastos edilicios ya solventados por el Instituto, supera los 900.000 dólares.

El equipo, un Orbitrap Q Exactive HF es el segundo de sus características en el país, y el único por su sensibilidad. En la región solo existen dos equipos similares aunque de menor sensibilidad y velocidad, uno de ellos en la UBA y otro en el Institut Pasteur, Montevideo Uruguay. El Orbitrap Q Exactive HF puede identificar más de 5000 proteínas en aproximadamente 90 minutos de digeridos trípticos de lisado de células, un aumento de más del 40% de los sistemas que se disponen actualmente en el país.

2. Descripción de la Unidad

La creación de la unidad permitirá inicialmente prestar servicios de proteómica avanzada a los investigadores del Instituto y a terceros, del ámbito público y privado.

La Unidad realizará la identificación y cuantificación de proteínas, cubriendo la manipulación de las muestras desde su recepción, purificaciones y procesamientos proteolíticos e identificación mediante espectrometría de masa.

Además, se ofrecerá el análisis de los datos extraídos del equipo mediante sistemas informáticos específicos.

La unidad propone también entrenar a sus integrantes en la preparación de muestras y el procesamiento para el análisis metabólico a la brevedad. Esto último no solo

complementa las tecnologías existentes en el Instituto sino también las amplía en capacidad de procesamiento y detección.

Se ofrecerá el asesoramiento previo necesario para la planificación de experimentos proteómicos de manera de cumplir con las necesidades de estos análisis haciendo así que los resultados sean válidos y utilizables.

Finalmente, se espera que la Unidad sirva como un núcleo de entrenamiento y enseñanza de la proteómica y metabolómica utilizando espectrometría de masa, no solo entrenando personal del Instituto, sino también dando cursos para que el IBR se posicione nacional e internacionalmente en esta tecnología. Asimismo, la Unidad propone organizar una red de intercambio de información entre las otras dos plataformas de proteómica existentes en Argentina y Uruguay.

3. Necesidad de la creación de una Unidad.

La creación de la Unidad permitirá el manejo administrativo, el mantenimiento del equipo y su costo y la prestación de servicios de manera apropiada.

La utilización del espectrómetro de masa solo puede realizarse a través de un conjunto reducido de operadores, investigadores y personal de apoyo dedicado, que debe ser especialmente entrenado para la manipulación de muestras y el manejo del equipo.

Una vez que el equipo entra en funcionamiento necesita de una asistencia técnica continúa dado que no puede detenerse en ningún momento y requiere mantenimientos, limpiezas y calibraciones de manera rutinaria. Además, por la enorme complejidad de uso que posee, no puede ser manipulado por investigadores o becarios del instituto sino por personal entrenado que se dedique en forma específica al equipo y a la preparación de muestras. Esto asegura el mantenimiento del equipo, el resguardo de aquellas partes deteriorables como columnas e inyectores, y asegura la reproducibilidad de resultados. En conjunto, esto asegura la calidad de resultados obtenidos.

El instrumental ha sido incorporado recientemente al Sistema Nacional de Espectrometría de Masas, como se indicaba en el otorgamiento del subsidio, y se ha generado un sistema de administración de turnos con dos responsables indistintos, los Doctores Rosano y Ceccarelli.

El equipo posee costos elevados de mantenimiento. Parte de esos costos deben ser solventados por la prestación de servicios a terceros. Se detecta una escasez importante a nivel nacional de sistemas que permitan hacer análisis proteómicos, y es de esperar que iniciada las operaciones, se reciban un considerable número de muestras. Por lo tanto, la Unidad no solo se autosustentaría si se maneja adecuadamente, sino también sería una fuente de ingresos al Instituto.

Se establecerá un costo mínimo de uso por muestra a aquellos investigadores del Instituto y un costo diferencial a terceros, según provengan del ámbito estatal o privado.

4. Composición inicial de la Unidad en recursos humanos

Se propone que la unidad cuente con dos investigadores responsables de la dirección y gestión de la misma.

Los investigadores a cargo poseen conocimientos en la resolución de muestras de proteómica y en la gestión necesaria del equipo. Además, se encuentran conectados con los sistemas de servicios proteómicos de la UBA, del Institut Pasteur de Montevideo y del Centro de Investigaciones Biológicas de Madrid. El Dr. Germán Rosano ha obtenido fuentes de financiamiento en el campo de proteómica, ha realizado entrenamientos en Argentina, Uruguay y España. Consideramos que poseemos la capacidad necesaria para potenciar el análisis proteómico y en el futuro, los estudios metabolómicos del Instituto.

Se espera incorporar un CPA a la brevedad, el cual ha sido solicitado a CONICET. Este personal es esencial para iniciar la prestación de servicios. Finalmente, se espera lograr la asignación de otros dos CPA dedicados a la unidad, a incorporarse más adelante.

5. Necesidades de la Unidad asociadas a su funcionamiento

Iniciado el funcionamiento del equipo, la creación de la Unidad implicaría:

- a. Establecer los responsables institucionales del funcionamiento y custodia del mencionado equipamiento. Estaríamos a cargo el Dr. Rosano y el Dr. Ceccarelli.
- b. Generar un espacio administrativo y de gestión para la organización de servicios internos y externos. Estas estructuras administrativas incluirán la redacción de STANs, de una página web institucional para ofrecer a los usuarios normativas y procedimientos y además, organizar el sistema de turnos.
- c. Disponer, además del espacio cerrado donde se encuentra el equipamiento, de un espacio para el procesamiento de muestras. Por lo tanto se solicita un espacio de dos mesadas donde las muestras puedan ser manipuladas fuera del ambiente donde se encuentra el espectrómetro, en mesadas aisladas de otras actividades para asegurar la disminución de contaminaciones cruzadas. El procesamiento de muestras incluye digestiones, purificaciones, electroforesis en geles y fraccionamientos para lo cual se necesita un espacio dedicado. Igualmente, se necesitará inicialmente un estante en una congeladora de -80 en un lugar común, y una heladera. Es de esperar que en el futuro la Unidad logre incorporar equipamiento pequeño de laboratorio para la manipulación de muestras, ya sea con financiamiento propio o por ayuda del Instituto.

Nota: Desde la instalación del equipo en enero de este año hemos cubierto el mantenimiento del mismo, con solventes propios o prestados de otros laboratorios. Además, para todas las pruebas de funcionamiento y entrenamiento estamos utilizando recursos propios y espacios de mesada dedicados a proyectos individuales. Cuando se comiencen a prestar servicios esto incluirá un número de muestras y actividades que no será posible hacerlos en los lugares que han sido asignados a los proyectos de nuestro grupo. La creación de la Unidad posibilitará realizar estas actividades de manera apropiada sin afectar otras actividades.