

Primera parte del ejercicio

100 preguntas + 10 de reserva
150 minutos

- 1** El proteoma de una célula humana está formado por:
 - a) Hasta centenares de miles de proteoformas diferentes, derivadas de la modificación postraducciona de las proteínas traducidas por la célula.
 - b) las proteínas derivadas de todos los mRNA transcritos a partir del genoma, incluyendo las originadas por splicing alternativo.
 - c) todas las proteínas traducidas en la célula
 - d) una proteína por cada uno de los genes del genoma humano.

- 2** El rango dinámico en la concentración de proteínas en una muestra biológica puede ser:
 - a) de hasta 5 órdenes de magnitud
 - b) de hasta 7 órdenes de magnitud
 - c) de hasta 10 o más órdenes de magnitud
 - d) No se conoce el rango dinámico.

- 3** Las técnicas de separación a nivel de péptido utilizadas en el análisis proteómico incluyen:
 - a) La electroforésis en gel de poliacrilamida-SDS
 - b) La cromatografía de afinidad
 - c) La concentración por ultrafiltración
 - d) La espectrometría de masas

- 4** Las principales diferencias entre las técnicas de análisis proteómico basadas en espectrometría de masas y en el uso de anticuerpos son:
 - a) Únicamente los métodos basados en anticuerpos permiten análisis dirigidos
 - b) Los métodos basados en anticuerpos son en general menos sensibles que los basados en MS
 - c) Los métodos basados en espectrometría de masas tienen en muchos casos una mayor especificidad
 - d) Todas las anteriores son ciertas

- 5** En un protocolo de preparación de muestra para el análisis proteómico, ¿cual sería el orden correcto de las siguientes etapas? A: digestión con tripsina; B: precipitación con ácido tricloroacético/acetona; C: separación por SDS-PAGE; D: sonicación en buffer Urea/CHAPS
- a) A, B, C, D
 - b) D, A, C, B
 - c) D, B, C, A
 - d) C, D, B, A
- 6** La preparación de extractos proteicos de células para análisis proteómico incluye muchas veces un paso de sonicación. El principal objetivo de este paso es:
- a) Asegurarse de la rotura completa de las membranas celulares
 - b) Romper las cadenas de nucleótidos en fragmentos cortos
 - c) Asegurarse de la solubilización de los componentes lipídicos
 - d) Romper los complejos proteicos presentes en la célula
- 7** En un experimento se ha purificado una proteína recombinante con un tag de His en una columna IMAC-Ni, que se ha eluído con un buffer 50mM Tris, 1M imidazol. Antes de llevar a cabo una digestión con tripsina, se quiere reducir la concentración de imidazol hasta 10 mM, utilizando un dispositivo de ultrafiltración de cutoff de 3 kDa. Para conseguirlo podemos hacerlo:
- a) Diluyendo 100 microlitros de la muestra hasta 1 mL con buffer 50 mM Tris y concentrando de nuevo por ultrafiltración hasta el volumen original
 - b) Repetir el proceso descrito en a) una vez más.
 - c) Llevar a cabo el proceso descrito en a) un total de 3 veces.
 - d) No es posible eliminar el imidazol por este procedimiento
- 8** Para extraer las proteínas de una muestra de tejido se ha utilizado un buffer con 6MUrea y 1% SDS. A continuación se utiliza un dispositivo de ultrafiltración para concentrar unas 20 veces el extracto proteico. En el análisis posterior se quiere medir la concentración de una proteína de interés de masa molecular 10KDa. Sin embargo, no se consigue detectar la presencia de esta proteína en las muestras. ¿Cual puede haber sido el problema que haya dado lugar a este resultado negativo?
- a) Se ha utilizado un dispositivo de ultrafiltración de cutoff 3KDa
 - b) La presencia de una alta concentración de urea durante la ultrafiltración
 - c) La presencia de una alta concentración de SDS durante la ultrafiltración
 - d) Ninguna de las anteriores es correcta

- 9** La digestión enzimática de las proteínas es un paso habitual en la preparación de muestra para el análisis proteómico. Para preparar un digerido proteico
- las proteínas deben estar en solución
 - debe utilizarse una proteasa que corte específicamente en determinados aminoácidos de las cadenas polipeptídicas
 - suele hacerse inicialmente una reducción de los puentes disulfuro, seguida del bloqueo de las cisteínas por alquilación
 - todas las anteriores son ciertas
- 10** Para llevar a cabo la digestión triptica de un extracto proteico, es necesario asegurarse de que:
- la cantidad de tripsina añadida para la digestión está como mínimo en proporción 1:5 en peso respecto a la cantidad de proteína total
 - el pH del medio de digestión esté en el rango 7-8
 - la concentración final de urea en el buffer tiene que ser inferior a 0.1 M
 - Todas las anteriores son ciertas
- 11** Una proteína contiene la secuencia peptídica C-Terminal siguiente:
HIPLEKKRSTRAMVILEGGARKKSPAKGGVNEHIVFSAALDV. Está interesado en estudiar la posible fosforilación de esta proteína. ¿Cómo llevaría a cabo la digestión enzimática?
- Utilizando tripsina
 - Utilizando una mezcla de las proteasas Arg-C y Lys-C
 - Utilizando la proteasa Glu-C
 - Utilizando una mezcla de proteasa Glu-C y Lys-C
- 12** Para llevar a cabo la purificación de un digerido proteico en una microcolumna de fase reversa C18 (ZipTip):
- Hay que escoger una microcolumna de capacidad adecuada a la cantidad de digerido a purificar.
 - la muestra debe estar disuelta en un buffer con un mínimo de 20% de acetonitrilo
 - la microcolumna debe equilibrarse con fase acetonitrilo-TFA antes de cargar la muestra.
 - todas las anteriores son ciertas.
- 13** En un gel de electroforesis bidimensional
- se separan proteínas intactas
 - se separan péptidos tripticos
 - cada mancha corresponde a una única proteína
 - cada proteína se encuentra en una única mancha

- 14** Para el análisis de una muestra por espectrometría de masas, hemos digerido un extracto celular. Por tanto, NO podemos utilizar
- a) electroforesis 2D e identificación por huella peptídica
 - b) cromatografía bidimensional y SRM/MRM
 - c) cromatografía de intercambio iónico y LC-MS/MS
 - d) ninguno de ellos
- 15** En la preparación de muestra para el análisis proteómico por electroforesis 2D es necesario:
- a) Añadir un buffer de tipo Tris o HEPES concentrado para ajustar el pH de la muestra
 - b) Eliminar las moléculas de polinucleótidos de la muestra
 - c) Solubilizar las proteínas con un detergente iónico
 - d) Todas las anteriores son ciertas
- 16** Queremos realizar un experimento de expresión diferencial mediante DIGE. Para ello:
- a) marcamos cada gel con un fluoróforo distinto
 - b) marcamos cada muestra con un fluoróforo distinto
 - c) juntamos las muestras y después las marcamos con tres fluoróforos
 - d) tras la electroforesis marcamos cada muestra con un fluoróforo distinto
- 17** Queremos realizar un experimento de expresión diferencial mediante DIGE para comparar un total de 8 muestras, correspondientes a 4 réplicas de muestras en 2 condiciones diferentes, A y B. Para llevar a cabo el experimento necesitaremos
- a) Hacer 8 geles de electroforesis bidimensional.
 - b) Utilizar un marcaje con un fluorocromo diferente para cada condición.
 - c) Hacer un pool de todas las muestras para utilizar como patrón interno.
 - d) Hacer un gel de electroforesis bidimensional para las muestras de cada una de las dos condiciones.
- 18** ¿Cuáles de estas son herramientas de análisis de imagen para experimentos de 2D-electroforesis?
- a) MaxQuant y Mascot
 - b) Progenesis SameSpots y Decyder
 - c) Peaks y Xcalibur
 - d) Proteome Discoverer y Progenesis SameSpots

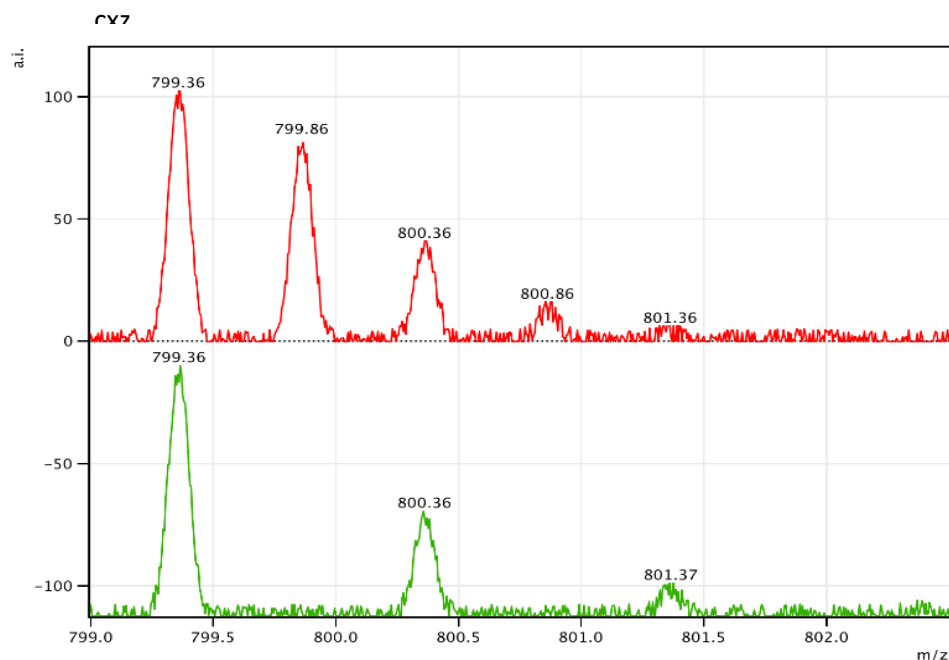
19 Para la comparación cuantitativa de proteomas a partir de las imágenes obtenidas de un experimento de 2D-electroforésis

- Es necesario alinear las manchas de proteínas de diferentes geles corrigiendo distorsiones en la movilidad electroforética dependiente de la masa molecular.
- Es necesario alinear las manchas de proteínas de diferentes geles corrigiendo distorsiones en su movilidad en la primera dimensión de la separación.
- Es necesario asegurarnos que la tinción empleada no produzca saturación de las intensidades.
- Todas las anteriores

20 La precisión de un espectrómetro de masas se refiere a

- la proximidad entre el valor medido y el valor real
- la capacidad de discriminar entre dos masas muy próximas
- la capacidad de detectar compuestos a muy baja concentración
- la reproducibilidad entre los valores de varias medidas

La figura muestra el espectro de masas ampliado de dos péptidos, A (superior) y B (inferior). Responde a las siguientes preguntas (20 a 25):



21 ¿Por qué hay varios picos en los espectros?

- porque los péptidos contienen impurezas
- porque los péptidos contienen modificaciones
- porque los elementos de los péptidos contienen distintos isótopos
- porque cada péptido se ioniza con varias cargas

22 ¿Por qué la separación entre picos es distinta en los dos espectros?

- a) porque la carga de los 2 péptidos es distinta
- b) porque el péptido A tiene más contaminantes
- c) porque la masa de los 2 péptidos es distinta
- d) porque cada péptido tiene un patrón de picos específico

23 Respecto a la masa de los péptidos A y B

- a) la masa del péptido A es aproximadamente el doble que la de B
- b) la masa del péptido A es aproximadamente la mitad que la de B
- c) los dos péptidos tienen la misma masa
- d) falta información para poder determinar la relación de masas

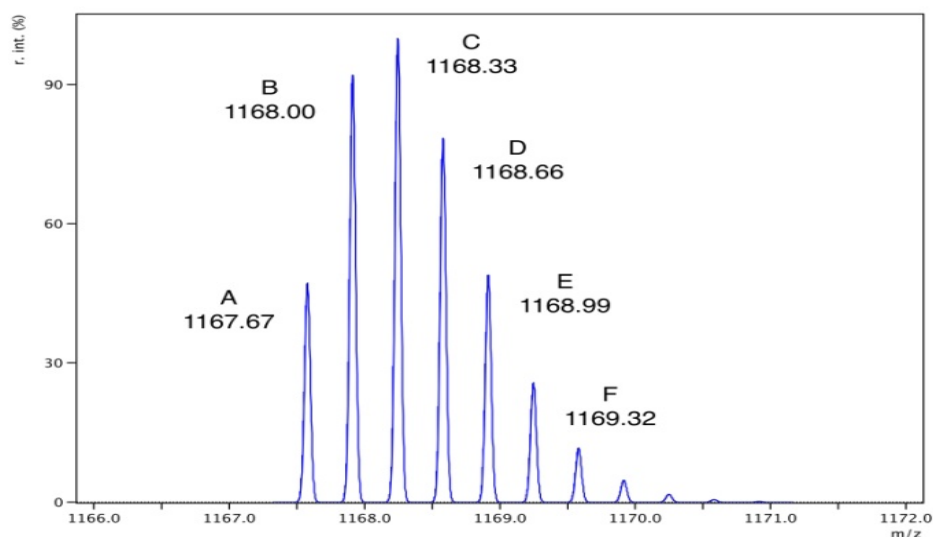
24Cuál es la carga del péptido A:

- a) 1
- b) 2
- c) 3
- d) No puede determinarse

25Cuál es la carga del péptido B:

- a) 1
- b) 2
- c) 3
- d) No puede determinarse

En la figura de abajo se muestra el espectro ampliado correspondiente a un péptido.
Contesta las siguientes preguntas (26 a 30)



- 26** ¿Qué representa cada pico?
- a) distintas modificaciones del péptido
 - b) el mismo péptido, pero con distintas cargas
 - c) el mismo péptido, pero con distintos isótopos
 - d) el mismo péptido, pero con distinto número de protones
- 27** ¿Cuál es el pico monoisotópico?
- a) A
 - b) C
 - c) F
 - d) ninguno de ellos
- 28** ¿Qué pico corresponde con la masa promedio?
- a) A
 - b) B
 - c) C
 - d) ninguno de ellos
- 29** ¿Cuál es la carga de péptido?
- a) 1
 - b) 2
 - c) 3
 - d) no puede determinarse
- 30** ¿Cuál es la masa de péptido?
- a) 1167,67
 - b) 3500,01
 - c) 3503,01
 - d) no puede determinarse

- 31** En un espectrómetro de masas A la señal correspondiente a un ion de $m/z = 1000$ Da tiene una anchura de 0.1 Da. En un segundo instrumento B la anchura de la señal de un ion de $m/z = 10000$ Da es de 0.5 Da. De acuerdo con estos datos
- El instrumento A tiene mayor resolución que el B
 - El instrumento B tiene mayor resolución que el A
 - Los dos instrumentos tienen la misma resolución
 - No es posible comparar la resolución de los dos instrumentos
- 32** Un tiempo de vuelo (TOF) es:
- un analizador de masas
 - un tipo de ionización
 - un láser pulsante
 - un tipo de análisis
- 33** Un analizador de tipo cuadrupolo
- Puede utilizarse como filtro para iones de un rango de masa/carga inferior a 1 Da
 - No puede utilizarse para obtener un espectro de MS completo
 - Puede separar iones sin un límite de m/z máximo
 - Permite llevar a cabo experimentos de MS3
- 34** ¿Cuál de estos analizadores de masas permite alcanzar una mayor resolución en la medida de masa/carga
- El cuadrupolo
 - El tiempo de vuelo (TOF)
 - La trampa iónica lineal
 - La trampa iónica 3D
- 35** Cuando hablamos de MALDI, nos estamos refiriendo a
- un método de ionización
 - un analizador de masas
 - un instrumento
 - un método cuantitativo
- 36** Para analizar una muestra de una proteína de masa molecular 20 kDa mediante MALDI-TOF MS, ¿Qué matriz utilizaría para preparar la muestra?
- ácido alfa-ciano-hidróxi cinámico
 - ácido dihidroxibenzoico
 - ácido sinapínico
 - ácido 3-hidroxi picolínico

- 37** Para adquirir el espectro de masas de una mezcla de péptidos en un instrumento MALDI-TOF
- a) Obtendremos una mayor exactitud en la medida de masa adquiriendo el espectro en modo reflector
 - b) Obtendremos una mayor resolución adquiriendo el espectro en modo lineal
 - c) Es mejor adquirir el espectro en polaridad negativa (iones con carga negativa)
 - d) Todas las anteriores son ciertas
- 38** Cuando hablamos de una identificación por huella peptídica nos referimos a:
- a) una identificación basada en la secuencia de los péptidos
 - b) una identificación basada en los tiempos de elución de los péptidos
 - c) una identificación basada en la fragmentación de los péptidos
 - d) una identificación basada en la masa de los péptidos
- 39** En un experimento de identificación por huella peptídica de una muestra humana no hemos obtenido ningún resultado positivo a pesar de tener un espectro de buena calidad. Probablemente se debe a que
- a) se trata de una mezcla de tres proteínas
 - b) no hemos fijado la taxonomía al realizar la búsqueda
 - c) la muestra no la hemos obtenido de una electroforesis 2D
 - d) la proteína no está en la base de datos
- 40** Para identificar una proteína por el método de la huella peptídica, ¿Cuál de estos parámetros es imprescindible especificar en el motor de búsqueda?
- a) El grupo taxonómico del organismo del que procede la proteína que queremos identificar
 - b) La masa aproximada de la proteína
 - c) El enzima con el que se ha llevado a cabo la digestión de la proteína
 - d) La modificación que se utilizado para bloquear las cisteínas
- 41** En una cromatografía en fase reversa de una mezcla de péptidos
- a) los péptidos más hidrofóbicos eluyen al final de la cromatografía
 - b) los péptidos más cortos eluyen al principio de la cromatografía
 - c) la capacidad de separación depende solamente de la longitud de la columna
 - d) todas las respuestas son ciertas

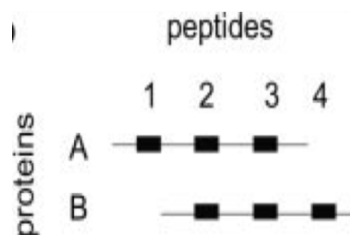
Disponemos de un método cromatográfico general para el análisis de péptidos trípticos por cromatografía en fase reversa, que lleva a cabo un gradiente de 5 a 35% de acetonitrilo en agua, 0.1% Ác. fórmico en 90 minutos, a un caudal de 300 nL/min. ¿Cómo deberíamos modificarlo para los siguientes tipos de análisis? (Preguntas 48-50).

- 42** Análisis de una muestra enriquecida en fosfopéptidos utilizando TiO₂
- a) Aumentando el tiempo de gradiente a 180 min.
 - b) Aumentando el % de acetonitrilo final al 50%
 - c) Iniciando el gradiente a 0% de acetonitrilo
 - d) Todas las anteriores.
- 43** Análisis de una muestra digerida con la proteasa Asp-N, en la que se obtienen péptidos de mayor longitud promedio que los producidos en la digestión con tripsina
- a) Disminuir el tiempo de gradiente a 30 min
 - b) Aumentar la temperatura de la columna a 40°C
 - c) Aumentar el % de acetonitrilo final al 60%
 - d) Inyectar una cantidad cuatro veces inferior de muestra
- 44** Análisis de un digerido tríptico de una proteína recombinante purificada
- a) Modificar el gradiente para que el % de acetonitrilo varíe de 0 a 80%
 - b) Disminuir el tiempo de gradiente a 15 min
 - c) Inyectar una cantidad 100 veces menor en la columna
 - d) Aumentar el caudal a 100 microlitros/min
- 45** El término ESI se refiere a:
- a) un instrumento
 - b) un tipo de ionización
 - c) un analizador de masas
 - d) un detector de masas
- 46** En la ionización por electrospray
- a) Se introducen en el espectrómetro de masas iones en disolución
 - b) No pueden ionizarse proteínas de masa superior a unos 10 kDa
 - c) Se generan habitualmente iones con carga múltiple
 - d) Todas las anteriores

- 47** En un equipo de LC-MS equipado con una fuente de ionización nano-electrospray tenemos problemas de pérdida de la señal de MS. ¿Cuál podría ser la causa del problema?
- a) el voltaje aplicado al emisor del electrospray es demasiado bajo
 - b) las fases móviles utilizadas en la cromatografía contienen ácido trifluoroacético
 - c) existe una conexión defectuosa que hace que se formen burbujas de aire
 - d) todas las anteriores
- 48** Los experimentos de espectrometría de masas en tándem (MS-MS):
- a) se basan en la cuantificación de proteínas marcadas con dos isótopos diferentes
 - b) consisten en la fragmentación de la proteína mediante la utilización de un gas noble
 - c) implican la secuenciación de péptidos mediante la tecnología de Edman
 - d) implican la fragmentación un ion precursor para obtener información de su secuencia de aminoácidos
- 49** ¿Qué son los iones de la serie y?
- a) la serie de fragmentos C-terminales producidos tras fragmentar un péptido
 - b) la serie de fragmentos N-terminales producidos tras fragmentar un péptido
 - c) la serie de fragmentos doblemente cargados producidos tras fragmentar un péptido
 - d) la serie de fragmentos triplemente cargados producidos tras fragmentar un péptido
- 50** El espectro de fragmentación de un péptido es:
- a) la fragmentación de un espectro de masas para analizarlo con más detalle
 - b) un espectro de masas
 - c) el espectro de los fragmentos del péptido producidos en la cámara de colisión
 - d) el espectro de cada fragmento del péptido producidos por tratamiento químico
- 51** ¿Qué son los iones de la serie b?
- a) la serie de fragmentos C-terminales producidos tras fragmentar un péptido
 - b) la serie de fragmentos N-terminales producidos tras fragmentar un péptido
 - c) la serie de fragmentos doblemente cargados producidos tras fragmentar un péptido
 - d) la serie de fragmentos triplemente cargados producidos tras fragmentar un péptido
- 52** En la secuenciación *de novo*
- a) se utiliza la información de un espectro de fragmentación para buscar en bases de datos la secuencia de un péptido
 - b) se utiliza la información de un espectro de fragmentación para deducir la secuencia de un péptido
 - c) se obtiene la secuencia de la proteína a partir de la masa de los péptidos
 - d) se obtiene la secuencia de la proteína completa a partir de un espectro de masas

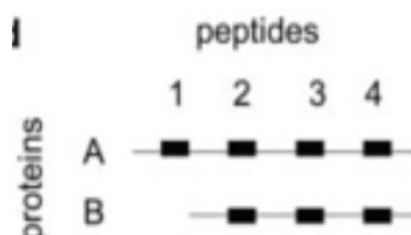
- 53** En el espectro de fragmentación MSMS de tipo CID de un péptido tríptico:
- Se observan principalmente iones de las series y y b
 - No se observan iones derivados de más de la rotura de dos enlaces peptídicos
 - los iones de mayor intensidad son los de la serie b
 - Los iones más abundantes son los de la serie c y z

- 54** En un experimento de LC-MS/MS hemos identificado 4 péptidos que pueden asignarse a dos proteínas según el esquema de abajo. Por tanto:
- solo tenemos evidencia de la presencia de la proteína A
 - solo tenemos evidencia de la presencia de la proteína B
 - tenemos evidencia de la presencia de las dos proteínas
 - no tenemos evidencia de la presencia de ninguna de las proteínas



- 55** En el procesamiento de una muestra hemos utilizado acrilamida en lugar de iodoacetamida para bloquear las cisteínas. ¿Podemos realizar una identificación de proteínas?
- no, solo se puede utilizar iodoacetamida para modificar cisteínas
 - no, porque su masa es distinta
 - sí, pero solo si se trata de una huella peptídica
 - sí, solo tenemos que indicarlo en el motor de búsqueda

- 56** En un experimento de LC-MS/MS hemos identificado 4 péptidos que pueden asignarse a dos proteínas según el esquema de abajo. Por tanto:
- solo se puede identificar con certeza la proteína A
 - solo se puede identificar con certeza la proteína B
 - se pueden identificar con certeza las dos proteínas
 - no se puede identificar con certeza ninguna de las proteínas



- 57** Una base de datos *decoy* es:
- a) una base de datos de proteínas decodificada a partir de secuencias de DNA
 - b) una base de datos en la que solo hemos dejado proteínas de un organismo
 - c) una base de datos con secuencias de proteínas ficticias
 - d) una base de datos a la que hemos añadido secuencias de posibles proteínas contaminantes
- 58** Hemos hecho un análisis LC-MSMS de una proteína purificada como posible alérgeno de un molusco marino comestible. Que base de datos sería mejor utilizar para llevar a cabo la búsqueda para tratar de identificar esta proteína.
- a) UniProt-SwissProt
 - b) UniProt-SwissProt restringiendo la taxonomía a "Other Metazoa"
 - c) NCBI
 - d) NCBI restringiendo la taxonomía a "Other Metazoa"
- 59** En los experimentos LC-MS/MS con adquisición dependiente de datos:
- a) se adquieren solamente espectros de fragmentación MSMS
 - b) se fragmentan todos los péptidos separados en la cromatografía
 - c) se alterna la adquisición de espectros de MS y de espectros de fragmentación MSMS
 - d) se seleccionan para fragmentar únicamente los iones con carga 1.
- 60** En un experimento LC-MS/MS con adquisición independiente de datos:
- a) Es necesario confeccionar una biblioteca de espectros de la muestra, mediante análisis DDA, para poder interpretar los resultados
 - b) Se puede obtener información cuantitativa de todos los péptidos separados en la cromatografía
 - c) Se identifican un mayor número de proteínas que en un análisis DDA
 - d) Se cuantifica el mismo número de péptidos para cada una de las proteínas identificadas.
- 61** En un experimento LC-MS/MS se puede obtener el perfil cromatográfico de un péptido concreto (Extracted Ion Chromatogram, XIC). Para ello
- a) debemos realizar un experimento para cada péptido
 - b) debemos extraer la intensidad del rango de masa correspondiente al péptido de cada espectro de MS obtenido en el transcurso de la cromatografía
 - c) debemos extraer la intensidad del rango de masa correspondiente al péptido de cada espectro de MS/MS obtenido en el transcurso de la cromatografía
 - d) debemos especificar la m/z de los péptidos de interés antes del experimento

- 62** Para utilizar para el análisis cuantitativo las señales de MS obtenidas en un cromatograma de LC-MS
- Es necesario adquirir alrededor de un mínimo de 10 espectros de masas a lo largo del pico cromatográfico de elución de cada péptido.
 - Es necesario que todos los péptidos que queremos cuantificar presenten tiempos de retención diferentes.
 - No es posible cuantificar péptidos que se ionizan con varios estados de carga diferentes.
 - Todas las anteriores son ciertas
- 63** En un análisis LCMS, al hacer un EIC a una masa/carga de 456.3 Da se obtiene un cromatograma en el que se observan tres picos cromatográficos diferentes, con diferente tiempo de retención. ¿Cómo podría saber que pico corresponde al péptido que quiere cuantificar?
- Comparando la distribución isotópica observada en los espectros de MS adquiridos en cada uno de los tres picos
 - El pico de mayor área es probablemente el pico del péptido de interés
 - A partir de datos de identificación del péptido a partir de los espectros MSMS adquiridos en el análisis LC-MS
 - Sería imprescindible disponer de un cromatograma del análisis de un péptido patrón de referencia
- 64** En el análisis proteómico cuantitativo por contaje espectral:
- Se utiliza el número de espectros de MSMS asignados a una proteína como medida de su abundancia
 - Se utiliza como medida cuantitativa el cociente del número de péptidos identificados para una proteína dividido por la masa molecular de ésta.
 - Se utiliza el número de péptidos identificados para cada proteína como medida de su abundancia en la muestra
 - Es posible obtener información cuantitativa fiable de todas las proteínas indentificadas

En un experimento de cuantificación relativa por contaje espectral se comparan los proteomas de muestras obtenidas en dos condiciones diferentes, células control (3 muestras) y células tratadas con un fármaco (3 muestras). Responde las siguientes preguntas (65-66).

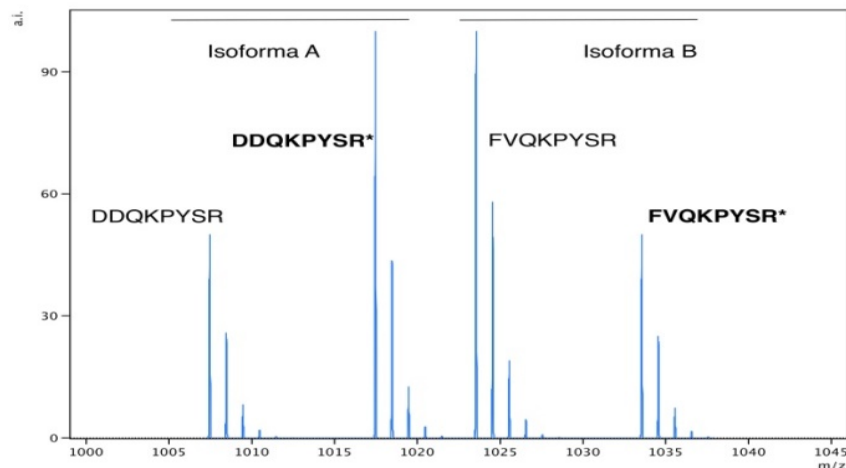
- 65** Para una proteína de interés (A) se ha medido un número de spectral counts promedio de 4 en las muestras control y de 8 en las muestras tratadas. Podemos concluir que:
- a) La abundancia de esta proteína es el doble en las muestras tratadas que en las control
 - b) No se puede hacer una comparación cuantitativa para esta proteína
 - c) Probablemente la abundancia de la proteína A es superior en las muestras tratadas que en las control
 - d) Ninguna de las respuestas es cierta
- 66** Para una segunda proteína B, los números de spectral counts observados son de 20 y 40 respectivamente. Por tanto:
- a) La proteína B es más abundante en las muestras tratadas que en las control
 - b) La ratio entre las muestras Tratadas y Control es probablemente cercano a 2
 - c) La proteína B es más abundante que la proteína A en los dos tipos de muestras
 - d) Todas las respuestas son ciertas
- 67** El método de comparación proteómica cuantitativa denominado contaje espectral se basa en:
- a) En un análisis LCMS el número de péptidos observados para cada proteína es proporcional a su abundancia.
 - b) En un análisis LCMS el número de espectros de MSMS asignables a peptidos de una proteína es proporcional a su masa molecular
 - c) En un análisis LCMS el número de espectros de MSMS asignables a peptidos de una proteína es proporcional a su proporción molar en la mezcla
 - d) En un análisis LCMS el número de espectros de MSMS asignables a peptidos de una proteína es proporcional a su proporción en peso en la mezcla
- 68** Para hacer un experimento de cuantificación *label-free*
- a) necesitamos disponer de un triple cuadrupolo
 - b) debemos tener todos los péptidos marcados con isótopos estables
 - c) tenemos que analizar cada muestra de manera independiente
 - d) tenemos que juntar las muestras antes del análisis

- 69** Para el análisis proteómico cuantitativo sin marcaje basado es importante tener en cuenta:
- a) Conviene que los tiempos de retención cromatográficos de los péptidos en los diferentes cromatogramas sean muy reproducibles.
 - b) Hay que analizar cantidades idénticas de cada una de las muestras
 - c) Es imprescindible que cada péptido se haya identificado en cada una de las muestras
 - d) Todas las anteriores son ciertas
- 70** En el análisis proteómico basado en marcaje isotópico no isobárico:
- a) Los proteomas que se quiere comparar cuantitativamente se marcan con isótopos radioactivos.
 - b) En un experimento se pueden comparar únicamente dos muestras diferentes.
 - c) Todos los péptidos de las muestras contienen el marcaje isotópico que permite distinguirlos.
 - d) Ninguna de las anteriores respuestas es cierta
- 71** En las técnicas de análisis proteómico basadas en marcaje isotópico no isobárico:
- a) Se obtiene información cuantitativa de todas las proteínas identificadas en el análisis
 - b) Se mezclan las muestras de los proteomas a comparar y se analizan conjuntamente
 - c) No pueden medirse con fiabilidad ratios de abundancia inferiores a 2
 - d) Para la cuantificación de cada proteína se utilizan los tres péptidos más abundantes identificados en el análisis
- 72** En las técnicas de análisis proteómico basadas en marcaje isotópico no isobárico:
- a) El número de muestras que pueden compararse en cada análisis es muy limitado
 - b) La información que se obtiene es solamente semicuantitativa
 - c) Las diferentes formas de un péptido con los diferentes marcajes isotópicos utilizados suelen presentar tiempos de retención diferente en la cromatografía
 - d) El número de péptidos marcados en que se basa la cuantificación es igual para todas las proteínas cuantificadas
- 73** En un proyecto de investigación queremos analizar las diferencias en el proteoma de tumores de los pacientes que responden al tratamiento y los que no. Para ello disponemos de muestras de biopsias de distintos pacientes ¿Qué método cuantitativo NO podremos utilizar?
- a) iTRAQ
 - b) SILAC
 - c) DIGE
 - d) label-free

74 En el método de análisis proteómico cuantitativo SILAC

- Es necesario marcar isotópicamente todos los residuos de lisina y arginina del proteoma analizado
- Pueden compararse cuantitativamente hasta tres proteomas en un único análisis LCMS
- Las muestras que se quieren comparar solo pueden mezclarse justo antes de su análisis por LC-MS
- Todas las anteriores son ciertas

75 Hemos realizado un experimento de cuantificación SILAC para determinar el efecto de un fármaco. Para ello hemos añadido el fármaco a células crecidas en un medio con Arg (R) marcada con ^{13}C y ^{15}N (en **negrita y con asterisco**). Las células sin fármaco se han crecido en un medio sin marcar. Hemos detectado la presencia de un péptido específico de cada una de las dos isoformas (A y B) de una proteína, como se indica en el espectro. ¿Qué conclusión, a partir del espectro, es verdadera?



- el fármaco duplica la abundancia de la isoforma A
- el fármaco duplica la abundancia de la isoforma B
- no podemos saber si se produce un cambio en la abundancia de las isoformas porque son péptidos distintos
- las dos isoformas cambian de manera similar

76 Además, también podemos concluir que:

- la isoforma A es el doble de abundante que la isoforma B antes del tratamiento
- la isoforma B es el doble de abundante que la isoforma A antes del tratamiento
- las dos isoformas son igual de abundantes antes del tratamiento
- no podemos saber la abundancia relativa de las isoformas a partir del espectro

- 77** La cuantificación mediante iTRAQ:
- a) no implica el marcaje de la muestra
 - b) cuantifica proteínas completas
 - c) se realiza con la información de los espectros de MS
 - d) se realiza con la información de los espectros de MS/MS
- 78** En un experimento de proteómica cuantitativa ITRAQ.:
- a) El marcaje se lleva a cabo sobre los extractos proteicos de cada muestra.
 - b) El marcaje se lleva a cabo después de digerir con tripsina los proteomas que se quieren comparar
 - c) No se puede realizar el marcaje de muestras de plasma de pacientes.
 - d) La cuantificación se basa en la señal de MS de cada péptido identificado.
- 79** En un experimento de análisis proteómico cuantitativo utilizando reactivos TMT cual sería el orden correcto de las siguientes etapas del proceso: A: análisis LCMSMS; B: Marcaje con reactivos TMT; C: Digestión triptica; D: Fraccionamiento por cromatografía en fase reversa a pH=10
- a) D;C;B;A
 - b) C;D;B;A
 - c) B;C;D;A
 - d) C;B;D;A
- 80** Para el análisis de péptidos con modificaciones postraduccionales:
- a) Es necesario disponer de un equipo capaz de llevar a cabo fragmentación MSMS por ETD
 - b) Hay que incluir todas las posibles modificaciones en los parámetros del motor de búsqueda
 - c) Es imprescindible llevar a cabo un enriquecimiento de los péptidos modificados previo al análisis LCMSMS
 - d) Es necesario hacer la digestión enzimática de las proteínas con diferentes enzimas
- 81** En el análisis de modificaciones postraduccionales en proteínas:
- a) Pueden identificarse péptidos con modificados postraduccionales pero no comparar cuantitativamente su abundancia en diversas muestras
 - b) Se obtiene información sobre la proporción relativa de la modificación para todos los péptidos modificados
 - c) Es habitual que incluyan una etapa de enriquecimiento por afinidad de los péptidos modificados
 - d) Todas las anteriores son ciertas

- 82** Queremos llevar a cabo un análisis del fosfoproteoma de unas células que incluya las fosforilaciones en Ser, Thr y Tyr. Para ello:
- Tendremos que utilizar el 10 % de la muestra al análisis de péptidos fosforilados en Tyr y el restante 90% a péptidos fosforilados en Ser y Thr.
 - Tendremos que utilizar el 10 % de la muestra al análisis de péptidos fosforilados en Ser y Thr y el restante 90% a péptidos fosforilados en Tyr
 - Utilizaremos dióxido de titanio para enriquecer la muestra en péptidos fosforilados en Tyr
 - Utilizaremos una cromatografía de afinidad con anticuerpos anti fosfo-Thr para enriquecer péptidos fosforilados en Thr
- 83** En un análisis de fosfoproteómica hemos identificado un fosfopéptido con tres posibles puntos de fosforilación, dos residuos de Ser y uno de Thr, en la secuencia. La masa observada para el ión del péptido presenta una diferencia de +160 Da respecto a la masa del péptido sin modificar. Por tanto:
- El péptido está fosforilado en dos de los tres residuos posibles
 - A partir del espectro de MSMS podremos siempre saber cuales son los residuos modificados
 - Todos los posibles péptidos difosforilados tendrán idéntico tiempo de retención cromatográfico
 - Todas las respuestas anteriores son ciertas
- 84** Queremos identificar las proteínas inducidas por un anticancerígeno mediante un análisis de expresión diferencial con un cultivo celular. ¿Qué procedimiento cuantitativo NO podríamos utilizar?:
- SRM/MRM
 - iTRAQ
 - DIGE
 - SILAC
- 85** Estamos realizando un estudio de biología de sistemas y tenemos que determinar la concentración absoluta de las proteínas presentes en nuestra muestra. Para ello, podríamos realizar:
- un experimento de cuantificación SILAC
 - un experimento de cuantificación iTRAQ
 - un experimento de cuantificación sin marcaje basado en intensidad de señal
 - ninguno de ellos proporciona la información necesaria

- 86** Un experimento de cuantificación por SRM/MRM:
- a) se realiza con la información de los espectros de MS
 - b) se realiza con la información de los espectros de MS/MS
 - c) utiliza la intensidad de los iones reporteros
 - d) utiliza la intensidad de los fragmentos
- 87** Un experimento de cuantificación por SRM/MRM
- a) Puede utilizarse para un experimento de Discovery de biomarcadores
 - b) Requiere disponer de datos previos de MSMS de los péptidos de interés
 - c) Permite la cuantificación de varios péptidos en un solo análisis LCMS
 - d) Requiere seleccionar varios péptidos de cada una de las proteínas que se quieren monitorizar.
- 88** En el análisis por cromatografía líquida acoplada a MS de tipo PRM
- a) Se lleva a cabo en un espectrómetro de tipo Triple Cuadruplo
 - b) Solamente puede realizarse en un instrumento de tipo Orbitrap.
 - c) Se adquiere únicamente la señal de una lista de transiciones predeterminada.
 - d) Se adquiere un espectro de MS/MS completo de los precursores seleccionados para su fragmentación
- 89** ¿Qué ventajas tiene el análisis PRM respecto a los métodos SRM?
- a) El desarrollo de los métodos de adquisición es más simple
 - b) Puede llevarse a cabo en el mismo instrumento donde se han realizado los experimentos de discovery
 - c) Normalmente permite cuantificar un mayor número de proteínas en un solo cromatograma de LCMS
 - d) Todas las anteriores son ciertas
- 90** ¿En que consiste un método de adquisición PRM de tipo "scheduled"?
- a) Un método en el que se adquieren de forma secuencial espectros de MS y de MSMS
 - b) Un método en que se monitorizan diferentes iones precursores en segmentos de tiempo a lo largo del gradiente
 - c) Un método en que se fragmentan de forma simultánea todos los péptidos ionizados en cada momento de la elución cromatográfica
 - d) Ninguna de las anteriores

- 91** En experimentos de discovery, ha identificado los siguientes cuatro péptidos de una proteína de interés. Para diseñar un método para la cuantificación absoluta de esta proteína, ¿Cuál de estos péptidos escogería como mejor opción para la cuantificación?
- a) KRFENHFQTR
 - b) HEFDILGVAK
 - c) EIAMAYETLMDANR
 - d) QNVTTYTDCSGR
- 92** En un análisis LCMS dirigido se ha añadido a la muestra un péptido pesado con marcaje isotópico Arg 13C6 15N4. En el análisis se observan picos que pueden corresponder al péptido patrón pesado y el correspondiente péptido endógeno, ligero. Para estos picos:
- a) El tiempo de retención del péptido pesado es unos 20 segundos mayor que el del péptido ligero.
 - b) La señal de mayor intensidad corresponde a la misma transición para ambos péptidos
 - c) La diferencia de masa entre los dos péptidos es de aproximadamente 3 Da
 - d) Todas las anteriores son ciertas
- 93** Queremos desarrollar un método de LCMS para analizar cuantitativamente la concentración absoluta de una proteína en muestras de plasma. Para ello
- a) Podemos utilizar como patrones péptidos marcados isotópicamente o la proteína entera marcada isotópicamente.
 - b) Necesitaremos conocer la concentración exacta de los patrones
 - c) Tendremos que asegurarnos que las señales de los péptidos se encuentren dentro del rango lineal de respuesta
 - d) Todas las anteriores son ciertas
- 94** El análisis proteómico topdown se caracteriza por:
- a) Se analizan proteínas por espectrometría de masas sin utilizar separación cromatográfica
 - b) Puede determinarse la posición de modificaciones postraduccionales de una proteína modificada.
 - c) Se determina únicamente la masa molecular de la proteína.
 - d) No pueden analizarse proteínas de masa molecular superior a 50 kDa

- 95** En el análisis proteómico topdown:
- a) Es necesario utilizar un espectrómetro que pueda alcanzar una resolución muy alta
 - b) La muestra se somete inicialmente a una digestión enzimática
 - c) La cromatografía líquida no es útil para la separación de proteoformas
 - d) Todas las anteriores son ciertas
- 96** Para el análisis proteómico de muestras de suero, puede utilizarse técnicas de cromatografía de afinidad para la eliminación de las proteínas más abundantes. Si se utiliza un sistema capaz de deplecionar las 14 proteínas más abundantes del suero humano, ¿que porcentaje de la proteína total de las muestras eliminaremos?
- a) aproximadamente el 50%
 - b) aproximadamente 75-80%
 - c) más del 95%
 - d) Dependerá de la procedencia de de las muestras
- 97** ¿Cual sería el principal inconveniente de efectuar un proceso de depleción de muestras de plasma para su análisis proteómico?
- a) El proceso de depleción puede suponer la pérdida de alguna proteína de interés
 - b) Tendremos que limitar el número de muestras del estudio
 - c) Necesitaremos disponer de una cantidad mayor de cada muestra
 - d) La depleción supondrá añadir una mayor variabilidad entre muestras
- 98** Que método de análisis proteómico sería el más adecuado para un estudio en el que el objetivo es buscar marcadores de una enfermedad en muestras de suero
- a) Un análisis LCMS de tipo "label free"
 - b) Un análisis LC-MS utilizando SILAC
 - c) Un análisis proteómico de tipo PRM
 - d) Un análisis proteómico utilizando electroforesis bidimensional DIGE
- 99** La técnica de imaging mediante espectrometría de masas MALDI permite
- a) La clasificación de muestras de tejido tumoral en función de patrones de imagen característicos
 - b) Obtener imágenes de la biodistribución de un fármaco en un tejido
 - c) La caracterización de la distribución de lípidos en un tejido
 - d) Todas las anteriores son ciertas

- 100** La técnica de imaging mediante espectrometría de masas MALDI permite
- a) Obtener imágenes de orgánulos a escala subcelular
 - b) El análisis dirigido de la distribución de una proteína de interés en un tejido
 - c) La obtención de imágenes de la distribución de una proteína de masa molecular 200 Kda
 - d) la obtención de la imagen de la localización de una proteína dentro de la célula

CUESTIONES ADICIONALES (a resolver sólo en caso de error en alguna de las anteriores o discrepancia con su planteamiento)

- 1** Las técnicas de separación a nivel de proteína utilizadas en el análisis proteómico incluyen:
- a) El isoelectroenfoque en gel de poliacrilamida
 - b) La cromatografía de fase reversa
 - c) La cromatografía de afinidad
 - d) Todas las anteriores
- 2** En un protocolo de preparación de muestra para el análisis proteómico, ¿cual sería el orden correcto de las siguientes etapas? A: Purificación en cartucho C18 en presencia de ácido fórmico; B: Concentración por ultrafiltración; C: Digestión con tripsina; D: Fraccionamiento en fase reversa a pH alto
- a) B, C, A, D
 - b) C, B, A, D
 - c) D, C, B, A
 - d) B, C, D, A
- 3** Para llevar a cabo la purificación de un digerido proteico en una microcolumna de fase reversa C18, pueden utilizarse
- a) Microcolumnas para centrífuga
 - b) Microcolumnas para sistemas de elución con vacío
 - c) Microcolumnas para sistemas de elución a presión
 - d) Todas las anteriores

- 4** En el laboratorio queremos analizar los cambios iniciales causados por un tratamiento aplicado a unas células en cultivo. En estas condiciones no hay tiempo para que se produzcan cambios de expresión y lo que esperamos son cambios en el patrón de modificaciones postraduccionales. Por tanto, pensamos que un análisis a nivel de proteína completa nos puede proporcionar más información. ¿Qué estrategia cuantitativa utilizarías
- a) iTRAQ
 - b) SILAC
 - c) SRM/MRM
 - d) DIGE
- 5** Si la exactitud de masa de nuestro instrumento es 10 ppm, ¿Cuál será el error máximo de un péptido de m/z 1000?
- a) 0.0001 Da
 - b) 0.001 Da
 - c) 0.01 Da
 - d) 0.1 Da
- 6** En un espectrómetro de tipo MALDI-TOF:
- a) En los espectros de MS de proteínas únicamente se observan iones con carga 1+
 - b) Las señales que se observan mayoritariamente para péptidos corresponden a iones con carga 2+ o 3+
 - c) Es necesario calibrar los tiempos de vuelo a partir de un espectro de una mezcla de patrones de masa conocida
 - d) Todos los iones de igual masa llegan al detector al mismo tiempo
- 7** Si queremos analizar una muestra por electrospray:
- a) necesitamos mezclar la muestra con matriz para facilitar la ionización
 - b) necesitamos que la muestra sea volátil
 - c) necesitamos tener la muestra en un medio con elevada fuerza iónica para facilitar la ionización
 - d) necesitamos tener la muestra en disolución
- 8** Los resultados de un experimento de identificación de proteínas de un extracto celular no muestra ningún péptido con cisteínas. ¿Cuál es la causa más probable de esta ausencia?
- a) no hay péptidos con cisteínas en la muestra
 - b) este tipo de péptidos nunca se observan en estos experimentos
 - c) no hemos indicado modificación alguna en el motor de búsqueda
 - d) las cisteínas son muy reactivas y suelen producir artefactos que impiden su identificación

- 9** En los experimentos LC-MS/MS con adquisición dependiente de datos:
- a) se obtiene información de la secuencia de todos los péptidos detectados
 - b) se obtiene información de la masa de todos los péptidos detectados
 - c) se obtiene información de la longitud de todos los péptidos
 - d) todas las opciones son correctas
- 10** En un experimento de análisis label-free basado en la intensidad de señales de MS:
- a) No es posible cuantificar péptidos que tengan modificaciones postraduccionales
 - b) Es necesario que la intensidad total de cada cromatograma sea idéntica
 - c) Para poder cuantificar la señal de un péptido es necesario haberlo identificado a partir de un espectro de MSMS en cada uno de los cromatogramas del experimento
 - d) La cuantificación de las proteínas de menor abundancia es más robusta que en la cuantificación basada en spectral counts