



Universitat de Lleida

GUIA DOCENT
**PROTEÒMICA I ENGINYERIA DE
PROTEÏNES**

Coordinació: VILLORBINA NOGUERA, GEMMA

Any acadèmic 2017-18

Informació general de l'assignatura

Denominació	PROTEÒMICA I ENGINYERIA DE PROTEÏNES			
Codi	101618			
Semestre d'impartició	ANUAL AVALUACIÓ CONTINUADA			
Caràcter	Grau/Màster	Curs	Caràcter	Modalitat
	Grau en Biotecnologia	3	OBLIGATÒRIA	Presencial
Nombre de crèdits ECTS	10,5			
Grups	1GG,2GM,8GP,4GP			
Crèdits teòrics	6.47			
Crèdits pràctics	4.03			
Coordinació	VILLORBINA NOGUERA, GEMMA			
Departament/s	CIENCIES MEDIQUES BASIQUES,QUIMICA			
Distribució càrrega docent entre la classe presencial i el treball autònom de l'estudiant	105 hores presencials 203 hores de treball de l'alumne			
Informació important sobre tractament de dades	Consulteu aquest enllaç per a més informació.			
Idioma/es d'impartició	Català			
	Anglès, diapositives i documentació de suport			
Distribució de crèdits	6.47 Lliçó magistral 1.45 Casos pràctics 0.70 Seminaris 1.67 Pràctiques de laboratori 0.21 Pràctiques aula d'informàtica			
Horari de tutoria/lloc	A consultar via correu electrònic amb els professors			

Professor/a (s/es)	Adreça electrònica professor/a (s/es)	Crèdits impartits pel professorat	Horari de tutoria/lloc
LARA AYALA, ISABEL	lara@quimica.udl.cat	4,7	
TAMARIT SUMALLA, JORDI	jordi.tamarit@cmb.udl.cat	5,5	
VILARÓ JORDANA, FRANCISCA	francesca.vilaro@udl.cat	,8	
VILLORBINA NOGUERA, GEMMA	gemnav@quimica.udl.cat	8,2	

Informació complementària de l'assignatura

Prerequisits: 101600 Química General i Orgànica
 101607 Bioquímica
 101617 Tècniques Instrumentals

Objectius acadèmics de l'assignatura

Objectius de coneixement

L'estudiant que superi l'assignatura ha de :

Es pretén que aprenguin els següents coneixements per superar l'assignatura:

1. Relacions estructura-funció de les proteïnes
2. Metodologies de caracterització estructural de les proteïnes
3. Rutes principals d'obtenció i modificació de proteïnes
4. Conceptes bàsics bioquímics

Objectius de capacitat

L'estudiant que superi l'assignatura ha de ser capaç de:

1. Resoldre problemes relacionats en la síntesi de proteïnes
2. Entendre i discutir articles científics relacionats amb les proteïnes
3. Determinar l'estructura tridimensional de les proteïnes
4. Utilitzar les eines informàtiques existents per a l'estudi estructural de les proteïnes
5. Dissenyar noves proteïnes i implementar-les per a la recerca de noves solucions

Competències

Competències generals

El graduat en Biotecnologia ha de:

- Ser capaç de buscar i utilitzar selectivament fonts d'informació necessàries per assolir els objectius formatius.
- Interpretar la informació científicotècnica amb sentit crític, i ser capaç de fer presentacions basades en aquesta informació.
- Ser capaç de realitzar informes escrit i orals comprensibles sobre el treball realitzat, amb una justificació basada en els coneixements teòric-pràctics assolits.
- Treballar en equip, amb una visió multidisciplinària i amb capacitat per a fer una distribució racional i eficaç de tasques entre els membres del equip.
- Utilitzar eines i tècniques de la informació i comunicació per a l'anàlisi de dades y la elaboració d'informes orals i escrits i d'altres activitats formatives i professionals.
- Respectar els drets fonamentals de la igualtat entre homes i dones, la promoció dels Drets Humans i els valors propis d'una cultura de pau i de valors democràtics.
- Conèixer i utilitzar adequadament el vocabulari científic i tècnic propi dels diferents àmbits de la Biotecnologia.
- Treballar al laboratori aplicant criteris de qualitat i bona pràctica.
- Ser capaç de desenvolupar una activitat professional d'acord amb les normatives de seguretat i respecte al medi ambient i amb criteris ètics.
- Adquirir criteris d'elecció de les tècniques analítiques més adequades per a cada cas pràctic concret.
- Interpretar la informació científicotècnica amb un sentit crític, i ser capaç de fer presentacions basades en aquesta informació.
- Ser capaç de realitzar informes escrits i orals comprensibles sobre el treball realitzat, amb una justificació basada en els coneixements teòric-pràctics assolits.

Competències específiques (segons document Pla d'Estudis)

- Ser capaç d'utilitzar tècniques experimentals per a l'anàlisi a nivell molecular, cel·lular i fisiològic.
- Conèixer i saber aplicar tècniques per a l'anàlisi d'estructures moleculars i per a la detecció i quantificació de metabolits i de macromolècules.
- Conèixer i saber aplicar les tècniques d'anàlisi òmic i d'interpretació dels resultats.
- Ser capaç de dissenyar el protocol d'un procés biotecnològic específic amb els requisits pràctics necessaris per a dur-lo a terme i els paràmetres d'avaluació d'aquest.
- Conèixer els principals àmbits d'aplicació de la Biotecnologia i adquirir la capacitació bàsica en alguns d'ells.
- Conèixer el funcionament i estar capacitat per a treballar en un laboratori de biotecnologia.

Continguts fonamentals de l'assignatura

TEMARI TEÒRIC:

Tema 1. L'enllaç peptídic i la seqüència polipeptídica (4h)

Les proteïnes, els pèptids i les seves funcions als éssers viu. Estereoquímica de l'enllaç peptídic. Els pèptids naturals. Reactivitat química de pèptids. Implicacions estructurals i funcionals de la seqüència polipeptídica. Determinació de la seqüència de proteïnes. Síntesi química de pèptids; llibreries combinatorials.

Tema 2. Nivells d'estructuració de les proteïnes. L'estructura tridimensional de les proteïnes (4h)

Tipus principals d'estructures secundàries: aminoàcids que hi participen. Estructures supersecundàries i motius estructurals. Dominis. Estructura terciària. L'estructura quaternària: protòmers i subunitats. Avantatges de l'adopció d'estructures quaternàries. Factors que governen l'estructura quaternària. Disposició relativa dels protòmers a l'espai. Relacions estructura-funció en algunes formes oligomèriques.

Tema 3. Estructura-funció de les proteïnes. Exemples (4h)

Proteïnes enzimàtiques: quimotripsina, lisozima, carboxipeptidasa. Proteïnes que s'uneixen a àcids nucleics: motiu α -gir- α , dits de zinc, cremalleres de leucina. Motors moleculars: miosina i actina; quinesines, dineïnes. Proteïnes de membrana. Estructura de les immunoglobulines.

Tema 4. Modificacions funcionals post-traducció (3h)

Tipus de modificacions post-traducció i implicacions funcionals. Transport i associació. Proteòlisi limitada: pre-proteïnes, zimògens. Activació en cascada. Alguns sistemes regulats per proteòlisi limitada: coagulació de la sang, proenzims digestius. Evolució de zimògens. Modificacions per fosforilació, acetilació, glucosilació. Modificacions per dany oxidatiu. Degradació i recanvi proteic *in vivo*: ubiquitinació. Estructura i funció del proteosoma.

Tema 5. Plegament i dinàmica conformacional (4h)

Desnaturalització de proteïnes; bases cinètiques i energètiques de la transconformació i desnaturalització; plegament *in vitro*. Fluctuacions, flexibilitat i dinàmica conformacional en proteïnes natives. Dinàmica molecular de proteïnes. Plegament de proteïnes *in vivo*: les xaperones moleculars. Patologies conformacionals.

Tema 6. Interacció proteïna-ligand (3h)

Forces que intervenen en l'associació proteïna-ligand. Determinació dels paràmetres termodinàmics de la interacció. Mètodes per l'estudi de la interacció. Disseny de fàrmacs basat en l'estructura.

Tema 7. Purificació i caracterització de proteïnes (8h)

Objectius i consideracions prèvies. Mètodes de quantificació. Etapes i monitorització del procés de purificació. Fraccionament i separació: propietats utilitzables i mètodes generals. Caracterització de la proteïna purificada. Mètodes immunològics: obtenció i ús d'anticossos policlonals i monoclonals. Immunoblot, immunoprecipitació, immunoassajos, immunotinció.

Tema 8. Determinació de l'estructura tridimensional de proteïnes (6h)

Metodologies de caracterització estructural de proteïnes. Anàlisi en films i en dissolució: IR, DC, RPE, CDE. Anàlisi en cristalls: raigs-X i ME. Espectroscòpia de RMN. Sondes químiques. Susceptibilitat a les proteases. Anàlisi de l'estructura quaternària.

Tema 9. Producció artificial de proteïnes (5h)

Sistemes d'expressió i el seu control. Vectors d'expressió i hostes utilitzables per a la producció recombinant de proteïnes. Cossos d'inclusió. Proteïnes de fusió i etiquetes d'afinitat. Maximització dels nivells d'expressió. Producció de proteïna recombinant en hostes eucariotes: estratègies i avantatges.

Tema 10. Mutagènesi dirigida i redisseny de proteïnes (5h)

Objectius i mètodes. Exemples i aplicacions de l'enginyeria de proteïnes en l'anàlisi de la seva estructura, estabilitat, i funcionalitat. Modificació i millora de les propietats de les proteïnes.

Tema 11. Introducció a l'anàlisi global de sistemes biològics (1h)

Concepte de genoma, transcriptoma, proteoma i metaboloma. Complexitat del proteoma. Objectius i àrees de la proteòmica

Tema 12. Electroforesi de proteïnes (4h)

Principis bàsics de la electroforesi: electroforesi nativa, BN-PAGE, desnaturalitzant i isoelectroenfoc. Tipus de detergents. Separació de proteïnes en gels bidimensionals: Mètodes de tinció i detecció. Electroforesi en suports no convencional: electroforesi capil·lar i sistemes microfluídics

Tema 13. Identificació de proteïnes mitjançant espectrometria de masses (3h)

Espectrometria de masses en proteòmica: principis, fonts d'ionització i detectors. Identificació de proteïnes mitjançant empremta de masses peptídiques. Seqüenciació de pèptids mitjançant espectrometria de masses en tàndem.

Tema 14. Proteòmica lliure de gel (3h)

Definició, flux de treball i avantatges de la proteòmica lliure de gel. *Top-down*, *bottom-up* i *shot-gun proteomics*. Instruments i modes d'operació en espectrometria de masses en tàndem. Estratègies quantitatives en proteòmica lliure de gel.

Tema 15. Proteòmica Clínica (2h)

Interès de la proteòmica en la clínica. Concepte de biomarcador. Biomarcadors en plasma. MALDI imaging. MALDI biotyper.

Tema 16. Caracterització de complexos proteïcs (4h)

Principis bioquímics bàsics de la interacció entre proteïnes. Tècniques basades en la captura per afinitat: immunoprecipitació i estratègies relacionades. Us d'entrecruadors per la caracterització de complexos i la seva arquitectura. Anàlisis de interaccions binaries *in vivo*: doble híbrid, FRET, *protein fragment complementation*. Separació de complexos en forma nativa. Espectroscòpia SPR. Bases de dades d'interaccions.

Tema 17. Metaloproteïnes (2h)

Metalls presents en les proteïnes. Característiques que determinen la coordinació dels metalls per part de les proteïnes. Grups hemo, centres ferro-sofre i altres tipus de complexos ferro-proteïna. Espectroscòpia en l'estudi de les metaloproteïnes: espectrofluorimetria, EPR i M

Tema 17. Identificació de modificacions postraduccionals (3h)

Detecció de modificacions postraduccionals mitjançant anàlisis de fragments: neutral loss i precursor ion scanning. Fosfoproteòmica. Glicoproteòmica. Ubiquitinòmica. Modificacions relacionades amb el dany oxidatiu.

Tema 18. Aplicacions de la Nanotecnologia a la proteòmica (xips de proteïna) (3h)

Principis generals i estratègies d'immobilització. Tipus de xips de proteïna: analítics, funcionals, d'antígens i de fase reversa. Sistemes de producció: PISA, NAPPA, DAPA. *Arrays* de partícules en suspensió.

ACTIVITATS PRÀCTIQUES:

Casos pràctics. Discussió d'articles seleccionats. Es tracten temes d'actualitat relacionats amb l'assignatura, preparat pel professor. (4h)

Seminaris. Exposició i discussió d'articles seleccionats. Es tracten temes d'actualitat relacionats amb l'assignatura, preparat pels alumnes. (3h)

Pràctica d'informàtica A. Identificació de proteïnes mitjançant empremta peptídica. Ús de MASCOT (2h)

Pràctica d'informàtica B. MS/MS i peptide atlas (2h)

Pràctiques de laboratori I. Síntesi en fase sòlida d'un tripèptid. (8h)

Pràctica de laboratori II. Extracció i SDS-PAGE de proteïnes solubles totals (4h)

Pràctica de laboratori III. Determinació de la estructura del tripèptid sintetitzat per RMN. (2h)

Pràctica de laboratori IV. Determinació de la estabilitat de la mioglobina per Dicroïsme Circular. (3h)

Pràctica de laboratori V. Electroforesis bidimensional de proteïnes (7h)

Eixos metodològics de l'assignatura

Metodologia

- Classes magistral de teoria
- Classes de casos pràctics i seminaris en grups reduïts
- Pràctiques de laboratori amb l'objectiu de conèixer les normes de seguretat en un laboratori i el maneig de les tècniques útils per la matèria

Pla de desenvolupament de l'assignatura

Tipus d'activitat	Descripció	Activitat presencial Alumne		Activitat no presencial Alumne		Avaluació	Temps total	
		Objectius	Hores	Treball alumne	Hores	Hores	Hores	ECTS
Lliçó magistral	Classe magistral (Aula. Grup gran)	Explicació dels principals conceptes	60	Estudi: Conèixer, comprendre i sintetitzar coneixements	131	5	196	6.47
Problemes i casos	Classe participativa (Aula. Grup gran)	Resolució de problemes i casos	14	Aprendre a resoldre problemes i casos	28	2	44	1.45
Seminari	Classe participativa (Grup mitjà)	Realització d'activitats de discussió o aplicació	3	Resoldre problemes i casos. Discutir	17	1	21	0.70
Laboratori	Pràctica de Laboratori (Grup mitjà)	Execució de la pràctica: comprendre fenòmens, mesurar...	24	Estudiar i Realitzar memòria	25	1.5	50.5	1.67
Aula d'informàtica	Pràctica d'aula d'informàtica (Grup mitjà)	Execució de la pràctica: comprendre fenòmens, mesurar...	4	Estudiar i Realitzar memòria	2	0.5	6	0.21
Totals			105		203	10	318	10.5

Sistema d'avaluació

Tipus d'activitat	Activitat d'Avaluació		Pes qualificació
	Procediment	Número	(%)
Lliçó magistral	Proves escrites sobre la teoria del programa de l'assignatura	4	70
Casos pràctics	Lliuraments o proves escrites sobre casos pràctics	1	8
Seminari	Proves escrites o orals	1	10
Laboratori	Lliurament de memòries, proves escrites o orals	6	8
Aula informàtica	Lliurament de memòries. Proves escrites o orals.	2	4
Total			100

Bibliografia i recursos d'informació

Bibliografia bàsica

- Michael M. Cox and George N. Phillips, Jr., **Handbook of Proteins. Structure, Functions and Methods, Vol.1 i 2** (2007) John Wiley & Sons Ltd.
- Whitford, D.; **Protein Structure and Function** (2005) John Wiley & Sons Ltd.
- Kessel, A.; Ben-Tal, N.; **Introduction to Protein Structure, Function and Motion** (2011) CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Walsh, G.; **Proteins. Biochemistry and Biotechnology** (2002) John Wiley & Sons Ltd.
- Gómez-Moreno C i Sancho J. **Estructura de Proteínas** (2003) Ariel Ciencia
- Walsh, C. T.; **Posttranslational Modification of Proteins: Expanding Nature's Inventory** (2006) Englewood, Col. : Roberts and Co. Publishers
- Twyman, R. M., **Principles of Proteomics** (Advanced Text Series) (2004) Garland Science/BIOS Scientific Publishing
- Simpson, R. J., **Proteins and Proteomics. A Laboratory Manual** (2003) Cold Spring Harbor Laboratory Press
- Van Holde, M., **Bioquímica** (2002) Ahern. Interamericana/McGrawHill
- Palzkill, T., **Proteomics** (2002) Kluwer Academic cop
- Kannicht, C., **Posttranslational modifications of proteins** (2002) Humana Press cop.
- Liebler, D.C., Yates, J. R., **Introduction to proteomics tools for the new biology** (2002) Humana Press cop
- Campbell, M., Heyer, L.J., **Discovering genomics, proteomics, and bioinformatics** (2003) Benjamin Cummings cop

Bibliografia complementària

- Buckel, P. (ed), **Recombinant Protein Drugs** (2001), Birkhäuser Verlag, Basel
- Cleland J.L. & Craik C.S., **Protein Engineering. Principles and Practice.** (1996) John Wiley & Sons Ltd.
- Kamp, R.M., Calvete, J. J., Choli-Papadopoulou, T. **Methods in Proteome and Protein Analysis** (2004) Springer-Verlag
- Lesk, A.M. **Introduction to Protein Architecture** (2001) Oxford University Press
- Oxender D.L. i Fox C.F., **Protein Engineering** (1987) Alan Liss Inc., New York.
- Perutz M., **Protein Structure. New Approaches to Disease and Therapy.** (1992). Freeman W.H. and Co., New York.
- Schultz, G.E. i Schirmer, R.H. **Principles of Protein Structure** (1979) Springer Verlag
- Sternberg M.J.E. **Protein Structure Prediction.** (1996) IRL- Oxford University Press.
- Wrede P. Schneider G., **Concepts in Protein Engineering and Design.** (1994) Walter de Gruyter.