



Universitat de Lleida

GUIA DOCENT
**PROTEÒMICA I ENGINYERIA DE
PROTEÏNES**

Coordinació: VILLORBINA NOGUERA, GEMMA

Any acadèmic 2021-22

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 assignatura (ECTS) | 10.5 | | | | | | |
| Tipus d'activitat, crèdits i grups | Tipus d'activitat | PRALAB | | | PRAULA | | TEORIA |
| | Nombre de crèdits | 1.7 | 0.3 | 0.7 | 0.4 | 0.4 | 7 |
| | Nombre de grups | 4 | 8 | 3 | 2 | 1 | 1 |
| Coordinació | VILLORBINA NOGUERA, GEMMA | | | | | | |
| Departament/s | QUÍMICA | | | | | | |
| 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 | | | | | | |

| Professor/a (s/es) | Adreça electrònica professor/a (s/es) | Crèdits impartits pel professorat | Horari de tutoria/lloc |
|---------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|------------------------|
| LARA AYALA, ISABEL | isabel.lara@udl.cat | 5,1 | |
| PEDRAZA GONZALEZ, NIEVES | neus.pedraza@udl.cat | 2,1 | |
| TAMARIT SUMALLA, JORDI | jordi.tamarit@udl.cat | 3,7 | |
| VILARÓ JORDANA, FRANCISCA | francesca.vilaro@udl.cat | ,8 | |
| VILLORBINA NOGUERA, GEMMA | gemma.villorbina@udl.cat | 7,8 | |

Informació complementària de l'assignatura

Seria convenient tenir superades les següents assignatures:

101600 Química General i Orgànica
 101607 Bioquímica
 101617 Tècniques Instrumentals

EQUIPS DE PROTECCIÓ INDIVIDUAL (EPI) per les sessions de pràctiques

És **OBLIGATORI** que els estudiants portin els següents equips de protecció individual (EPI) en el transcurs de les pràctiques docents.

- Bata laboratori blanca UdL unisex
- Ulleres de protecció
- Guants de protecció química

Els EPI es poden adquirir a la botiga **ÚDELS** de la UdL

Centre de Cultures i Cooperació Transfronterera – Campus Cappont

Carrer de Jaume II, 67 baixos

25001 Lleida

<http://www.publicacions.udl.cat/>

Per a més informació, consultar les fitxes dels productes: <http://www.bioteconologia.udl.cat/ca/pla-formatiu/equipament.html>

Per a altres equips de protecció (per exemple taps, mascaretes respiratòries, etc.), dependran del tipus de pràctica a realitzar. En aquest cas, el professor responsable informará si és necessari la utilització d'aquests EPI específics.

No portar els EPI descrits o no complir les normes de seguretat generals que es detallen a continuació comportarà que l'estudiant no pugui accedir als laboratoris o que hagi de sortir del mateixos.

NORMES GENERALS DE SEGURETAT EN LES PRÀCTIQUES DE LABORATORI

- Mantenir el lloc de realització de les pràctiques net i ordenat. La taula de treball ha de quedar lliure de motxilles, carpetes, abrics...
- En el laboratori no es podrà venir amb pantalons curts ni faldilles curtes.
- Portar calçat tancat i cobert durant la realització de les pràctiques.
- Portar el cabell llarg sempre recollit
- Mantenir les bates cordades per protegir enfront d'esquitxades i vessaments de substàncies químiques.
- No portar polseres, penjolls o mànigues amples que puguin ser atrapats pels equips, muntatges...
- Evitar portar lents de contacte, ja que l'efecte dels productes químics és molt més gran si s'introdueixen entre la lent de contacte i la còrnia.
- No menjar ni beure dins el laboratori
- Està prohibit fumar dins dels laboratoris
- Rentar-se les mans sempre que es tingui contacte amb algun producte químic i abans de sortir del laboratori.
- Seguir les instruccions del professor i consultar qualsevol dubte sobre seguretat

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

El graduat en Biotecnologia ha de:

Competències generals

- CG1 Ser capaç de buscar i utilitzar selectivament fonts d'informació necessàries per assolir els objectius formatius.
- CG 4 Conèixer i utilitzar adequadament el vocabulari científic i tècnic propi dels diferents àmbits de la Biotecnologia.
- CG 5 Treballar al laboratori aplicant criteris de qualitat i bona pràctica.
- CG 7 Utilitzar el mètode científic per analitzar dades i dissenyar estratègies experimentals amb aplicacions biotecnològiques.
- CG 11 Adquirir criteris d'elecció de les tècniques analítiques més adequades per a cada cas pràctic concret.

Competències específiques (segons document Pla d'Estudis)

- CE 26 Ser capaç d'utilitzar tècniques experimentals per a l'anàlisi a nivell molecular, cel·lular i fisiològic.
- CE 27 Conèixer i saber aplicar tècniques per a l'anàlisi d'estructures moleculars i per a la detecció i quantificació de metabolits i de macromolècules.
- CE 28 Conèixer i saber aplicar les tècniques d'anàlisi òmic i d'interpretació dels resultats.
- CE 34 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.
- CE 35 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 (5h)

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 (5h)

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-traduïció (3h)

Tipus de modificacions post-traduïció 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 (1h)

Forces que intervien 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 (3h)

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. Metal·loproteïnes (3h)

Característiques de la unió proteïna-metall. Concepte de metall lliure i de metal·loaperona. Principals formes de coordinació del ferro en les metal·loproteïnes. Eines espectroscòpiques per l'estudi de metal·loproteïnes. Biocatàlisi i química biomimètica basada en metal·loproteïnes

Tema 14. 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. Identificació de pèptids mitjançant espectrometria de masses en tàndem.

Tema 15. 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 16. Proteòmica Clínica (2h)

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

Tema 17. Caracterització de complexos protèics (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 18. 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 19. 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. Identificació de proteïnes mitjançant MS/MS ion search i ús de 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 Dicroïsmes Circulars. (3h)

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

Eixos metodològics de l'assignatura

Metodologia

- Classes magistral de teoria, on es preveu alternar sessions presencials amb sessions no presencials
- 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
- Es realitzaran activitats alternatives per a totes aquelles activitats que no es puguin desenvolupar amb normalitat per la situació actual

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 + Videoconferència) | Explicació dels principals conceptes | 60 | Estudi: Conèixer, comprendre i sintetitzar coneixements | 131 | 5 | 196 | 6.47 |
| Problemes i casos | Classe participativa (Aula. Grup gran + Videoconferència) | 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 |

Si a causa de la situació actual alguna activitat no es pot desenvolupar amb normalitat, es realitzaran activitats

alternatives per tal de poder-les avaluar segons el pes de qualificació que li correspon.

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.