



GUÍA DOCENTE

PROTEÓMICA E INGENIERÍA DE PROTEÍNAS

Coordinación: VILLORBINA NOGUERA, GEMMA

Año académico 2022-23

Información general de la asignatura

| | | | | | | | |
|---|--|--------|-------------|------------|--------|-----|--------|
| Denominación | PROTEÓMICA E INGENIERÍA DE PROTEÍNAS | | | | | | |
| Código | 101618 | | | | | | |
| Semestre de impartición | ANUAL EVALUACIÓN CONTINUADA | | | | | | |
| Carácter | Grado/Máster | Curso | Carácter | Modalidad | | | |
| | Grado en Biotecnología | 3 | OBLIGATORIA | Presencial | | | |
| Número de créditos de la asignatura (ECTS) | 10.5 | | | | | | |
| Tipo de actividad, créditos y grupos | Tipo de actividad | PRALAB | | | PRAULA | | TEORIA |
| | Número de créditos | 1.7 | 0.3 | 0.7 | 0.4 | 0.4 | 7 |
| | Número de grupos | 4 | 8 | 3 | 2 | 1 | 1 |
| Coordinación | VILLORBINA NOGUERA, GEMMA | | | | | | |
| Departamento/s | QUÍMICA | | | | | | |
| Distribución carga docente entre la clase presencial y el trabajo autónomo del estudiante | 105 horas presenciales 203 horas de trabajo del alumno | | | | | | |
| Información importante sobre tratamiento de datos | Consulte este enlace para obtener más información. | | | | | | |
| Idioma/es de impartición | Catalán Inglés, diapositivas y documentación extra | | | | | | |
| Distribución de créditos | 6.47 Lección magistral 1.45 Casos prácticos 0.70 Seminarios 1.67 Practicas de laboratorio 0.21 Practicas aula de informática | | | | | | |

| Profesor/a (es/as) | Dirección electrónica\profesor/a (es/as) | Créditos impartidos por el profesorado | Horario de tutoría/lugar |
|---------------------------|--|--|--------------------------|
| LARA AYALA, ISABEL | isabel.lara@udl.cat | 5,5 | |
| SERRA MAQUEDA, AIDA | aida.serra@udl.cat | 2,1 | |
| TAMARIT SUMALLA, JORDI | jordi.tamarit@udl.cat | 3,7 | |
| VILARO JORDANA, FRANCISCA | francesca.vilaro@udl.cat | ,8 | |
| VILLORBINA NOGUERA, GEMMA | gemma.villorbina@udl.cat | 7,4 | |

Información complementaria de la asignatura

Sería conveniente tener superadas las siguientes asignaturas:

- 101600 Química General y Orgánica
- 101607 Bioquímica
- 101617 Técnicas Instrumentales

EQUIPOS DE PROTECCIÓN INDIVIDUAL (EPI) para las sesiones de prácticas

Es **OBLIGATORIO** que los estudiantes lleven los siguientes equipos de protección individual (EPI) en el transcurso de las prácticas docentes.

- Bata de laboratorio blanca UdL unisex
- Gafas de protección
- Guantes de protección química

Los EPI se pueden adquirir a la tienda **ÚDELS** de la UdL

Centro de Culturas y Cooperación Transfronteriza - Campus Caupton

Calle de Jaume II, 67 bajos

25001 Lleida

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

Para más información, consultar las fichas de los productos: <http://www.biotecnologia.udl.cat/es/pla-formatiu/equipament.html>

Para otros equipos de protección (por ejemplo tapones, mascarillas respiratorias, etc ..), dependerán del tipo de práctica a realizar. En este caso, el profesor responsable informará si es necesario la utilización de estos EPI específicos.

No llevar los EPI descritos o no cumplir las normas de seguridad generales que se detallan a continuación comportará que el estudiante no pueda acceder a los laboratorios o que tenga que salir de los mismos.

NORMAS GENERALES DE SEGURIDAD EN LAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO

- Mantener el lugar de realización de las prácticas limpio y ordenado. La mesa de trabajo debe quedar libre de mochilas, carpetas, abrigos ...
- En el laboratorio no se podrá venir con pantalones cortos ni faldas cortas.
- Llevar calzado cerrado y cubierto durante la realización de las prácticas.
- Llevar el pelo largo siempre recogido.
- Mantener las batas abrochadas para proteger frente a salpicaduras y derrames de sustancias químicas.
- No llevar pulseras, colgantes o mangas anchas que puedan ser atrapados por los equipos, montajes ...
- Evitar llevar lentes de contacto, ya que el efecto de los productos químicos es mucho mayor si se introducen entre la lente de contacto y la córnea.
- No comer ni beber dentro del laboratorio.
- Está prohibido fumar dentro de los laboratorios.
- Lavarse las manos siempre que se tenga contacto con algún producto químico y antes de salir del laboratorio.
- Seguir las instrucciones del profesor y consultar cualquier duda sobre seguridad.

Objetivos académicos de la asignatura

Objetivos de conocimiento

El estudiante que supere la asignatura tiene que:

Se pretende que aprenda los siguientes conocimientos para superar la asignatura:

1. Relaciones estructura-función de las proteínas
2. Metodologías de caracterización estructural de las proteínas
3. Rutas principales de obtención y modificación de proteínas
4. Conceptos básicos bioquímicos

Objetivos de capacidad

El estudiante que supere la asignatura tiene que ser capaz de:

1. Resolver problemas relacionados con la síntesis de proteínas
2. Entender y discutir artículos científicos relacionados con las proteínas
3. Determinar la estructura tridimensional de las proteínas
4. Utilizar las herramientas informáticas existentes para el estudio estructural de las proteínas
5. Diseñar nuevas proteínas e implementarlas para la investigación de nuevas soluciones

Competencias

El graduado en Biotecnología tiene que:

Competencias generales

- CG 1 Ser capaz de buscar y utilizar selectivamente fuentes de información necesarias para conseguir los objetivos formativos.
- CG 4 Conocer y utilizar adecuadamente el vocabulario científico y técnico propio de los diferentes ámbitos de la Biotecnología.
- CG 5 Trabajar al laboratorio aplicando criterios de calidad y buenas prácticas.
- CG 7 Utilizar el método científico para analizar datos y diseñar estrategias experimentales con aplicaciones biotecnológicas.
- CG 11 Adquirir criterio de elección de las técnicas analíticas más adecuadas para cada caso práctico concreto

Competencias específicas (según el documento del Plan de Estudios)

- CE 26 Ser capaz de utilizar técnicas experimentales para el análisis a nivel molecular, celular y fisiológico.
- CE 27 Conocer y saber aplicar técnicas para el análisis de estructuras moleculares y para la detección y cuantificación de metabolitos y de macromoléculas.
- CE 28 Conocer y saber aplicar las técnicas de análisis ómico y de interpretación de los resultados.
- CE 34 Ser capaz de diseñar el protocolo de un proceso biotecnológico específico con los requisitos prácticos necesarios para realizar-lo y los parámetros de evaluación de este.
- CE 35 Conocer el funcionamiento y estar capacitado para trabajar en un laboratorio de biotecnología.

Contenidos fundamentales de la asignatura

TEMARIO TEÓRICO:

Tema 1. El enlace peptídico y la secuencia polipeptídica (4h)

Las proteínas, los péptidos y sus funciones en el ser vivo. Estereoquímica del enlace peptídico. Los péptidos naturales. Reactividad química de péptidos. Implicaciones estructurales y funcionales de la secuencia polipeptídica. Determinación de la secuencia de proteínas. Síntesis química de péptidos; librerías combinatoriales.

Tema 2. Niveles de estructuración de las proteínas. La estructura tridimensional de las proteínas (4h)

Tipos principales de estructuras secundarias: aminoácidos que participan. Estructuras supersecundarias y motivos estructurales. Dominios. Estructura terciaria. La estructura cuaternaria: protómeros y subunidades. Ventajas de la adopción de estructuras cuaternarias. Factores que gobiernan la estructura cuaternaria. Disposición relativa de los protómeros en el espacio. Relaciones estructura-función en algunas formas oligoméricas.

Tema 3. Estructura-función de las proteínas. Ejemplos (4h)

Proteínas enzimáticas: quimotripsina, lisozima, carboxipeptidasa. Proteínas que se unen a ácidos nucleicos: motivo α -giro- α , dedos de zinc, cremalleras de leucina. Motores moleculares: miosina y actina; quinesinas, dineínas. Proteínas de membrana. Estructura de las inmunoglobulinas.

Tema 4. Modificaciones funcionales post-traducción (3h)

Tipos de modificaciones post-traducción y implicaciones funcionales. Transporte y asociación. Proteólisis limitada: pre-proteínas, zimógenos. Activación en cascada. Algunos sistemas regulados por proteólisis limitada: coagulación de la sangre, proenzimas digestivas. Evolución de zimógenos. Modificaciones por fosforilación, acetilación, glicosilación. Modificaciones por daño oxidativo. Degradación y recambio proteico *in vivo*: ubiquitinación. Estructura y función del proteosoma.

Tema 5. Plegamiento y dinámica conformacional (4h)

Desnaturalización de proteínas; bases cinéticas y energéticas de la transconformación i desnaturalización; plegamiento *in vitro*. Fluctuaciones, flexibilidad y dinámica conformacional en proteínas nativas. Dinámica molecular de proteínas. Plegamiento de proteínas *in vivo*: las chaperonas moleculares. Patologías conformacionales.

Tema 6. Interacción proteína-ligando (3h)

Fuerzas que intervienen en la asociación proteína-ligando. Determinación de los parámetros termodinámicos de la interacción. Métodos para el estudio de la interacción. Diseño de fármacos basados en la estructura.

Tema 7. Purificación y caracterización de proteínas (8h)

Objetivos y consideraciones previas. Métodos de cuantificación. Etapas y monitorización del proceso de purificación. Fraccionamiento y separación: propiedades utilizables y métodos generales. Caracterización de la proteína purificada. Métodos inmunológicos: obtención y uso de anticuerpos policlonales y monoclonales. Inmunoblot, inmunoprecipitación, inmunoensayos, inmunotinción.

Tema 8. Determinación de la estructura tridimensional de proteínas (6h)

Metodologías de caracterización estructural de proteínas. Análisis en films y en disolución: IR, DC, RPE, CDE. Análisis en cristales: rayos-X i ME. Espectroscopia de RMN. Sondas químicas. Susceptibilidad a las proteasas. Análisis de la estructura cuaternaria.

Tema 9. Producción artificial de proteínas (5h)

Sistemas de expresión y su control. Vectores de expresión y huéspedes utilizables per a la producción recombinante de proteínas. Cuerpos de inclusión. Proteínas de fusión y etiquetas de afinidad. Maximización de los niveles de expresión. Producción de proteína recombinante en huéspedes eucariotas: estrategias y ventajas.

Tema 10. Mutagénesis dirigida y rediseño de proteínas (5h)

Objetivos y métodos. Ejemplos y aplicaciones de la ingeniería de proteínas en el análisis de su estructura, estabilidad y funcionalidad. Modificación y mejora de las propiedades de las proteínas.

Tema 11. Introducción al análisis global de sistemas biológicos (1h)

Concepto de genoma, transcriptoma, proteoma y metaboloma. Complejidad del proteoma. Objetivos y áreas de la proteómica.

Tema 12. Electroforesis de proteínas (4h)

Principios básicos de la electroforesis: electroforesis nativa, BN-PAGE, desnaturalizante y isoelectroenfoque. Tipo de detergentes. Separación de proteínas en geles bidimensionales: Métodos de tinción y detección. Electroforesis en soportes no convencional: electroforesis capilar y sistemas microfluídicos

Tema 13. Metaloproteínas (3h)

Características de la unión proteína-metal. Concepto de metal libre y de metaloxaperona. Principales formas de coordinación del hierro en las metaloproteínas. Herramientas espectroscópicas para el estudio de metaloproteínas- Biocatálisis y química biomimética basada en metaloproteínas.

Tema 14. Identificación de proteínas mediante espectrometría de masas (3h)

Espectrometría de masas en proteómica: principios, fuentes de ionización y detectores. Identificación de proteínas mediante huella de masas peptídicas. Identificación de péptidos mediante espectrometría de masas en tándem.

Tema 15. Proteómica libre de gel (3h)

Definición, flujo de trabajo y ventajas de la proteómica libre de gel. *Top-down*, *bottom-up* y *shot-gun proteomics*. Instrumentos y modos de operación en espectrometría de masas en tándem. Estrategias cuantitativas en proteómica libre de gel.

Tema 16. Proteómica clínica (2h)

Interés de la proteómica en la clínica. Concepto de biomarcador. Biomarcadores en plasma. MALDI imaging. MALDI biotyper.

Tema 17. Caracterización de complejos proteicos (4h)

Principios bioquímicos básicos de la interacción entre proteínas. Técnicas basadas en la captura por afinidad: inmunoprecipitación y estrategias relacionadas. Uso de entrecruzadores para la caracterización de complejos y su arquitectura. Análisis de interacciones binarias *in vivo*: doble híbrido, FRET, *protein fragment complementation*. Separación de complejos en forma nativa. Espectroscopia SPR. Bases de datos de interacciones.

Tema 18. Identificación de modificaciones postraduccionales (3h)

Detección de modificaciones postraduccionales mediante análisis de fragmentos: neutral ions y precursor ion scanning. Fosfoproteómica. Glicoproteómica. Ubiquitinómica. Modificaciones relacionadas con el daño oxidativo.

Tema 19. Aplicaciones de la nanotecnología a la proteómica (chips de proteína) (3h)

Principios generales y estrategias de inmovilización. Tipos de chips de proteína: analíticos, funcionales, de antígenos y de fase reversa. Sistemas de producción: PISA, NAPP, DAPA. *Arrays* de partículas en suspensión.

ACTIVIDADES PRÁCTICAS:

Casos prácticos. Discusión de artículos seleccionados. Se tratan temas de actualidad relacionados con la asignatura, preparado por el profesor. (4h)

Seminarios. Exposición y discusión de artículos seleccionados. Se tratan temas de actualidad relacionadas con la asignatura, preparado por los alumnos. (3h)

Práctica de informática A. Identificación de proteínas mediante huella peptídica. Uso de MASCOT (2h)

Práctica de informática B. Identificación de proteínas mediante MS/MS ion search y uso del peptide atlas (2h)

Prácticas de laboratorio I. Síntesis en fase sólida de un tripéptido. (8h)

Práctica de laboratorio II. Extracción y SDS-PAGE de proteínas solubles totales (4h)

Práctica de laboratorio III. Determinación de la estructura del tripéptido sintetizado por RMN. (2h)

Práctica de laboratorio IV. Determinación de la estabilidad de la mioglobina per Dicroísmo Circular. (3h)

Práctica de laboratorio V. Electroforesis bidimensional de proteínas (7h)

Ejes metodológicos de la asignatura

Metodología

- Clases magistrales de teoría, se prevé alternar sesiones presenciales con sesiones no presenciales
- Clases de casos prácticos y seminarios en grupos reducidos
- Prácticas de laboratorio con el objetivo de conocer las normas de seguridad en un laboratorio y el manejo de las técnicas útiles para la materia
- Se realizarán actividades alternativas para todas aquellas actividades que no se puedan desarrollar con normalidad debido a la situación actual

Plan de desarrollo de la asignatura

| Tipo de actividad | Descripción | Actividad presencial alumno | | Actividad no presencial alumno | | Avaluación | | Tiempo total | |
|---------------------|---|--|------------|---|------------|------------|------------|--------------|--|
| | | Objetivos | Horas | Trabajo alumno | Horas | Horas | Horas | ECTS | |
| Lección magistral | Clase magistral (Aula. Grupo grande + Videoconferencia) | Explicación de los principales conceptos | 60 | Estudio: Conocer, comprender y sintetizar conocimientos | 131 | 5 | 196 | 6.47 | |
| Problemas y casos | Clase participativa (Aula. Grupo grande + Videoconferencia) | Resolución de problemas y casos | 14 | Aprender a resolver problemas y casos | 28 | 2 | 44 | 1.45 | |
| Seminario | Clase participativa (Grupo mediano) | Realización de actividades de discusión o aplicación | 3 | Resolver problemas y casos. Discutir | 17 | 1 | 21 | 0.70 | |
| Laboratorio | Práctica de laboratorio (Grupo mediano / pequeño) | Ejecución de la práctica: comprender fenómenos, medir... | 24 | Estudiar y Realizar memoria | 25 | 1.5 | 50.5 | 1.67 | |
| Aula de informática | Práctica en el aula de informática (Grupo mediano) | Ejecución de la práctica: comprender fenómenos, medir... | 4 | Estudiar y Realizar memoria | 2 | 0.5 | 6 | 0.21 | |
| Totales | | | 105 | | 203 | 10 | 318 | 10.5 | |

Sistema de evaluación

| Tipo de actividad | Actividad de evaluación | | Peso calificación |
|-------------------|--|--------|-------------------|
| | Procedimiento | Número | (%) |
| Lección magistral | Pruebas escritas sobre la teoría del programa de la asignatura | 4 | 70 |
| Casos prácticos | Entregables o pruebas escritas sobre casos prácticos | 1 | 8 |
| Seminario | Pruebas escritas y/o orales | 1 | 10 |
| Laboratorio | Redacción de memorias, pruebas escritas y/o orales | 6 | 8 |
| Aula informática | Redacción de memorias, pruebas escritas y/o orales | 2 | 4 |

Si a causa de la situación actual alguna actividad no se puede desarrollar con normalidad, se realizarán actividades alternativas para poder evaluarlas según el peso de calificación que les corresponde.

Bibliografía y recursos de información

Bibliografía básica

- 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) Ahem. 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

Bibliografía complementaria

- 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.