

Guía docente de la asignatura

Fecha de aprobación por la Comisión Académica: 16/07/2021

Termodinámica y Biocalorimetría (M38/56/1/39)

Máster

Máster Universitario en Biotecnología

MÓDULO

Modulo I: Docencia

RAMA

Ciencias

CENTRO RESPONSABLE DEL TÍTULO

Escuela Internacional de Posgrado

Semestre

Primero

Créditos

3

Tipo

Optativa

Tipo de enseñanza

Presencial

PRERREQUISITOS Y/O RECOMENDACIONES

Los propios del máster

BREVE DESCRIPCIÓN DE CONTENIDOS (Según memoria de verificación del Máster)

1. Calorimetría diferencial de barrido, (DSC).
 1. Aspectos Instrumentales.
 2. Diseño y principios de funcionamiento de los calorímetros de barrido DASM 4, MC2 y VP-DSC.
 3. Experimento calorimétrico.
 4. Preparación del experimento. Línea base instrumental. Barrido con la muestra de biopolímero. Calibrado y corrección dinámica. Calorimetría diferencial de barrido, (DSC). Análisis de datos. Obtención de la capacidad calorífica molar parcial de la proteína. Análisis de los termogramas.
 5. Ajuste de las curvas de capacidad calorífica molar parcial con el modelo de equilibrio de dos estados y otros modelos de equilibrio.
2. Calorimetría Isotérmica de Titulación, (ITC).
 1. Aspectos Instrumentales.
 2. Diseño y principios de funcionamiento de calorímetros isotérmicos de titulación, prototipos e instrumentos comerciales.
 3. El experimento estándar en ITC, parámetros experimentales. Experimentos en casos de muy alta o muy baja afinidad de las especies que participan en la reacción de unión.
 4. Análisis de datos. Formulación y análisis de datos para.



COMPETENCIAS

COMPETENCIAS BÁSICAS

- CB6 - Poseer y comprender conocimientos que aporten una base u oportunidad de ser originales en desarrollo y/o aplicación de ideas, a menudo en un contexto de investigación.
- CB7 - Que los estudiantes sepan aplicar los conocimientos adquiridos y su capacidad de resolución de problemas en entornos nuevos o poco conocidos dentro de contextos más amplios (o multidisciplinares) relacionados con su área de estudio.
- CB8 - Que los estudiantes sean capaces de integrar conocimientos y enfrentarse a la complejidad de formular juicios a partir de una información que, siendo incompleta o limitada, incluya reflexiones sobre las responsabilidades sociales y éticas vinculadas a la aplicación de sus conocimientos y juicios.
- CB9 - Que los estudiantes sepan comunicar sus conclusiones y los conocimientos y razones últimas que las sustentan a públicos especializados y no especializados de un modo claro y sin ambigüedades.
- CB10 - Que los estudiantes posean las habilidades de aprendizaje que les permitan continuar estudiando de un modo que habrá de ser en gran medida autodirigido o autónomo.

COMPETENCIAS ESPECÍFICAS

- CE01 - Identificar, diseñar, implementar e interpretar métodos Biotecnológicos;
- CE03 - Manejar las tecnologías de la información para la adquisición, procesamiento y difusión de resultados en investigación;
- CE04 - Emitir juicios en función de criterios y razonamiento crítico y aprender a reconocer los parámetros de calidad en investigación;
- CE06 - Trabajar en equipo y abordar los problemas de una forma interdisciplinar
- CE09 - Reconocer y adaptarse a la diversidad y multiculturalidad.
- CE40 - Conocimiento sobre los conceptos y relaciones termodinámicas de la interacción macromolécula-ligando obtenidos por técnicas calorimétricas.

RESULTADOS DE APRENDIZAJE (Objetivos)

El alumno sabrá/comprenderá:

- Los fundamentos termodinámicos y, en general, químico físicos necesarios para el estudio y comprensión de las técnicas y métodos calorimétricos.
- El análisis de la interacción entre una macromolécula y un ligando en función del número y clases de sitios de unión
- Las interacciones no covalentes responsables del plegamiento de una macromolécula biológica y de su interacción con ligandos.
- La disección de las posibles contribuciones energéticas en los procesos de interacción obtenidas por CIT.
- Algunos de los posibles modelos para el análisis de datos calorimétricos.
- Los fundamentos de las técnicas calorimétricas de alta sensibilidad para muestras biológicas in vitro, Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB) ("Differential Scanning Calorimetry, DSC") y Calorimetría Isotérmica de Titulación (CIT) ("Isothermal Titration Calorimetry, ITC").
- Las posibles aplicaciones de estas técnicas calorimétricas a sistemas de interés biológico,



especialmente al estudio del plegamiento de proteínas y a las interacciones proteína-ligando, proteína-proteína, proteína-ADN, etc.

- Los principios de diseño e implementación de la CDB y la CIT. Las aproximaciones y limitaciones de ambas técnicas experimentales.
- Los métodos de análisis de los termogramas específicos de cada técnica calorimétrica para obtener la máxima información termodinámica posible.
- Analizar los resultados de CDB en términos de estabilidad de las proteínas estudiadas y los mecanismos moleculares que determinan su plegamiento.
- Analizar los resultados de ITC en términos de los mecanismos moleculares que determinan la energética de la interacción macromolécula-ligando o macromolécula-macromoléculas.

El alumno será capaz de:

- Manejar con soltura los conceptos y relaciones termodinámicas necesarias en el curso.
- Analizar los datos de interacción macromolécula-ligando obtenidos por técnicas no calorimétricas.
- Correlacionar hasta cierto punto la relación entre funciones termodinámicas obtenidas por calorimetría con procesos y características a escala molecular.
- Diseñar conjuntos de experimentos de CDB y CIT que permitan obtener la máxima información termodinámica posible de los sistemas bajo estudio
- Analizar los termogramas de CDB y CIT según diferentes modelos de plegamiento e interacción posibles.
- Determinar el modelo de plegamiento y/o interacción que mejor represente el comportamiento experimental observado

PROGRAMA DE CONTENIDOS TEÓRICOS Y PRÁCTICOS

TEÓRICO

Tema 1: Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC): Aspectos Instrumentales. Diseño y principios de funcionamiento de los calorímetros de barrido. Diseño del experimento calorimétrico: preparación del experimento; línea base instrumental; barrido con la muestra de biopolímero; calibrado y corrección dinámica. Análisis y ajuste de los datos experimentales y modelos matemáticos de ajustes.

Tema 2: Aplicaciones Biotecnológicas de la Calorimetría Diferencial de Barrido: En la industria farmacológica: Caracterización de estabilidad de fármacos. Caracterización y selección de las condiciones o candidatos más estables para el desarrollo bioterapéutico y determinación de la vida media. Optimización de estrategias de purificación. Validación de biocompatibilidad de diversos lotes de un mismo producto. Industria Biotecnológica: Identificación de dianas de proteínas de interés biotecnológico y caracterización de afinidad. Caracterización de nanopartículas y nanotransportadores. Diseño y caracterización de interruptores moleculares y biosensores.

Tema 3: Calorimetría Isotérmica de Titulación (ITC): Aspectos Instrumentales. Diseño y principios de funcionamiento de calorímetros isotérmicos de titulación. El experimento estándar en ITC, parámetros experimentales. Experimentos en casos de muy alta o muy baja afinidad de las especies que participan en la reacción de unión. Análisis de datos y modelos matemáticos más utilizados.

Tema 4: Aplicaciones Biotecnológicas de la Calorimetría Isotérmica de



Titulación: Cuantificación de la afinidad de enlace. Diseño dirigido termodinámicamente de fármacos Desarrollo de nuevos fármacos. Estudio de metabolismo celular. Validación de los valores IC50 y EC50. Caracterización del mecanismo de acción. Diseño de nuevos fármacos. Estudios de cinética y catálisis Enzimática.

PRÁCTICO

PRÁCTICA 1: Análisis de los datos experimentales de DSC (datos obtenidos por el alumno o proporcionados por el profesor).

PRÁCTICA 2: Análisis de los datos experimentales de ITC (datos obtenidos por el alumno o proporcionados por el profesor).

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA FUNDAMENTAL

- Bach, D. y Chapman, D. (1980) "Biological Microcalorimetry" (Beezer, A.E., Ed.), pag. 265, Academic Press, London.
- Barón, C., González, J.F., Cortijo, M. y Mateo, P.L. (1989) *J. Biol. Chem.* 264, 12872-12878.
- Becktel, W.J. y Schellman, J.A. (1987) *Biopolimers* 26, 1859-1877.
- Brandts, J.F. (1964) *J. AM. Chem. Soc.* 86, 4291-4301.
- Chowdry y cole (1989) *Trends in Biotechnology* 7, 11-18.
- Conejero-Lara, F. y Mateo, P.L. (1996) *Biochemistry* 35, 3477-3486.
- Conejero-Lara, F., Mateo, P.L., Avilés, F.X. y Sánchez-Ruiz, J.M. (1991a) *Biochemistry* 30, 2067-2072.
- Conejero-Lara, F., Sánchez-Ruiz, J.M., Mateo, P.L., Burgos, F.J., Vendrell J. y Avilés, F.X. (1991b) *Eur. J. Biochem.* 200, 663-670.

BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA

- Cooper, A. y Johnson, C.M. (1994a) *Methods in Molecular Biology* 22, 109-124.
- Cooper, A. y Johnson, C.M. (1994b) *Methods in Molecular Biology* 22, 125-136.
- Creighton, T.E. (1986) *Methods Enzymol* 131: 156-172.
- Filimonov, V.V. y Rogov, V.V. (1996) *J. Mol. Biol.* 225, 767-777.
- Filimonov, V.V., Matveyev, S.V., Potekhin, S.A. y Privalov, P.L. (1982) *J. Mol. Biol.* 16, 551-562.
- Filimonov, V.V., Prieto, J., Martínez, J.C., Bruix, M., Mateo, P.L. y Serrano, L. (1993) *Biochemistry* 32, 12906-12921.
- Freire, E. (1995) in *Protein Stability and Folding* (Shirley, B., ed) Vol. 40, pp.191-218.
- Freire, E. (1995) *Methods Enzymol.* 259, 144-168.
- Freire, E., van Osdol, W.W., Mayorga, O.L. y Sanchez-Ruiz, J.M. (1990) *Annu. Rev. Biophys. Chem.*, 19, 159-188.
- Friere, E. y Biltonen, R.L. (1978) *Biopolimers* 17, 463-479.
- Gill, S.C., Richey, B., Bishop, G. y Wyman, J. (1985) *Biophys. Chem.* 21, 1-14.
- Griko, Y.V. y Privalov, P.L. (1992) *Biochemistry* 31, 8810-8815.



- Griko, Y.V., Privalov, P.L., Sturtevant, J.M. y Venyamov, S.Y. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 3343-3347.
- Griko, Y.V., Venyamov, S.Y. y Privalov, P.L. (1989) FEBS Lett. 244, 276-278.
- Jackson, S.E. y Fersht, A.R. (1991) Biochemistry 30, 10428-10435.
- Lechuga, T. (1986) Tesina de licenciatura, Universidad de Granada.
- López-Mayorga, O. y Freire, E. (1987) Biophys. Chem. 87, 87-96.
- López-Mayorga, O. (1983) Tesis Doctoral, Universidad de Granada.
- Mabrey, S. y Sturtevant, J.M. (1978) Methods Membr. Biol. 9, 237.
- Makhatadze, G.I. y Privalov, P.L. (1990) J. Mol. Biol. 213, 375-384.
- Mateo, P.L. (1984) "Thermochemistry and its applications to chemical and Biochemical Systems" (Ribeiro de Silva, M.A.V., Ed), pag. 541. Reidel, Holland.
- Mateo, P.L., Barón, C., López-Mayorga, O., Jiménez, J.S. y Cortijo, M. (1984) J. Biol. Chem. 259, 9384-9389.
- Mateo, P.L., González, J.F., Barón, C., López-Mayorga, O. y Cortijo, M. (1986) J. Biol. Chem. 261, 17067-17072.
- Montgomery, D., Jordan, R., McMacken, R. y Freire, E. (1993) J. Mol. Biol. 232, 680-692.
- Privalov, G., Kavina, V., Freire, E. y Privalov, P.L. (1995) Anal Biochem 232, 79-85.
- Privalov, P.L. y Filimonov, V.V. (1978) J. Mol. Biol. 122, 447.
- Privalov, P.L. y Khechinashvili, N.N. (1974) J. Mol. Biol. 86, 665-684.
- Privalov, P.L. y Makhatadze, G.I. (1990) J. Mol. Biol. 213, 385-391
- Privalov, P.L. y Potekhin, S.A. (1986) Methods Enzymol. 131, 4-51.
- Privalov, P.L. (1979) Adv. Prot. Chem. 33, 167-241.
- Privalov, P.L. (1980) Pure Appl. Chem. 52, 479-497.
- Privalov, P.L. (1982) Adv. Prot. Chem. 35, 1-104.
- Privalov, P.L. (1989) Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem. 18, 47-69.
- Privalov, P.L., Tiktopoulo, E.I., Venyaminov, S.Yu., Griko, Y.V., Makhatadze, G.I. y Khechinashvili, N.N. (1989) J.

ENLACES RECOMENDADOS

<https://www.affinimeter.com/site/>
<https://www.malvernpanalytical.com>
<https://www.tainstruments.com>

METODOLOGÍA DOCENTE

- MD01 Clases magistrales
- MD02 Experimentación

EVALUACIÓN (instrumentos de evaluación, criterios de evaluación y porcentaje sobre la calificación final)

EVALUACIÓN ORDINARIA

La evaluación se realiza mediante controles basados en:

- Calificación de ejercicios de cálculo propuestos individualmente o por grupos, sobre cuya resolución trabajarán los alumnos en sus horas de estudio. Competencias evaluadas: CB6, CB7,



CB8, CB9, CB10, CE1, CE3, CE4, CE6, CE9, CE40

- Un examen final, si se considerara necesario en caso de problemas de asistencia. El examen consistirá en ejercicios de razonamiento, cálculos y análisis de datos. Competencias evaluadas: CE1, CB9, CB10, CB7.

La calificación final responde al siguiente baremo:

- Actitud y participación de los estudiantes en clase: 40%
- Evaluación de los resultados obtenidos en el laboratorio a través de la actividad diaria y/o elaboración de una memoria: 30%
- Evaluación mediante examen de los conocimientos y/o habilidades adquiridas: 30%

EVALUACIÓN EXTRAORDINARIA

El artículo 19 de la Normativa de Evaluación y Calificación de los Estudiantes de la Universidad de Granada establece que los estudiantes que no hayan superado la asignatura en la convocatoria ordinaria dispondrán de una convocatoria extraordinaria. A ella podrán concurrir todos los estudiantes, con independencia de haber seguido o no un proceso de evaluación continua. De esta forma, el estudiante que no haya realizado la evaluación continua tendrá la posibilidad de obtener el 100% de la calificación mediante la realización de una prueba y/o trabajo.

Examen presencial teórico/problemas que representará el 100% de la nota

EVALUACIÓN ÚNICA FINAL

El artículo 8 de la Normativa de Evaluación y Calificación de los Estudiantes de la Universidad de Granada establece que podrán acogerse a la evaluación única final, el estudiante que no pueda cumplir con el método de evaluación continua por causas justificadas.

Para acogerse a la evaluación única final, el estudiante, en las dos primeras semanas de impartición de la asignatura o en las dos semanas siguientes a su matriculación si ésta se ha producido con posterioridad al inicio de las clases o por causa sobrevenidas. Lo solicitará, a través del procedimiento electrónico, a la Coordinación del Máster, quien dará traslado al profesorado correspondiente, alegando y acreditando las razones que le asisten para no poder seguir el sistema de evaluación continua.

Examen presencial teórico/problemas que representará el 100% de la nota

