

Guía docente de la asignatura

Fecha de aprobación por la Comisión Académica: 12/07/2022

**Expresión Heteróloga para Caracterización de Dianas Moleculares (M78/56/1/12)****Máster**

Máster Universitario en Biología Molecular Aplicada a Empresas Biotecnológicas (Bioenterprise)

**MÓDULO**

Módulo 2: Docencia Optativa

**RAMA**

Ciencias

**CENTRO RESPONSABLE DEL TÍTULO**

Escuela Internacional de Posgrado

<b>Semestre</b>	Segundo	<b>Créditos</b>	4	<b>Tipo</b>	Optativa	<b>Tipo de enseñanza</b>	Presencial
-----------------	---------	-----------------	---	-------------	----------	--------------------------	------------

**PRERREQUISITOS Y/O RECOMENDACIONES**

Se recomienda tener conocimientos básicos de Biología Molecular.

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

- Técnicas avanzadas en DNA recombinante: Obtención de secuencias codificantes, clonación y subclonación.
- Expresión de proteínas recombinantes. Vectores de expresión, células hospedadoras, estrategias para el control de la expresión de proteínas recombinantes. Proteínas de fusión
- Purificación y procesamiento de proteínas recombinantes. Cromatografía de afinidad basada en proteínas de fusión. Sistemas de procesamiento proteolítico de proteínas de fusión. Sistemas de expresión bicistrónicos.
- Mutagénesis de proteínas. Mutagénesis al azar y sitio-específica de proteínas. Phage display. Evaluación de sistemas comerciales de mutagénesis de proteínas.
- Métodos para la caracterización estructural de dianas moleculares.



- Análisis mediante mutagénesis de la validez de dianas moleculares. Mecanismos de acción de fármacos y resistencias a fármacos.

## 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 GENERALES

- CG01 - Hablar bien en público.
- CG02 - Asumir responsabilidades en lo que respecta al desarrollo de conocimientos y/o prácticas profesionales y a la revisión del rendimiento estratégico de equipos
- CG03 - Desarrollar capacidades para preparar y gestionar proyectos de Investigación y/o de Desarrollo.

### COMPETENCIAS ESPECÍFICAS

- CE01 - Adquirir conocimientos altamente especializados, algunos de ellos a la vanguardia en un campo de trabajo o estudio concreto, que sienten las bases de un pensamiento o investigación originales en el campo de la Biología Molecular y su relación con las empresas biotecnológicas.
- CE03 - Adquirir conciencia crítica de cuestiones de conocimiento en un campo concreto de la biotecnología y en el punto de articulación entre diversos campos como el diagnóstico genético, la identificación, el desarrollo de fármacos, etc. para emitir informes profesionales.
- CE04 - Adquirir conocimientos del alcance, limitaciones y campos fundamentales de aplicación de las herramientas bioinformáticas en el contexto de la estructura y función de las proteínas, con especial énfasis en la ingeniería de proteínas, el diseño racional de fármacos y la nanobiotecnología
- CE05 - Ser capaces de plantear aproximaciones experimentales utilizando técnicas ómicas y modelos celulares y animales
- CE06 - Adquirir destrezas especializadas para resolver problemas en materia de investigación o innovación, con vistas al desarrollo de nuevos conocimientos y



procedimientos, y a la integración de los conocimientos en diversos campos de la biotecnología.

- CE09 - Saber utilizar los recursos científicos y de gestión necesarios en una empresa biotecnológica y desenvolverse con autonomía
- CE10 - Desarrollar capacidades para identificar y evaluar oportunidades de negocio en el entorno general y específico de la actividad biotecnológica

## RESULTADOS DE APRENDIZAJE (Objetivos)

- Comprender los principios que determinan la estructura de las macromoléculas biológicas (incluyendo proteínas y ácidos nucleicos), así como de los complejos supramoleculares biológicos, y ser capaz de explicar las relaciones entre la estructura y la función.
- Conocer los principios de manipulación de los ácidos nucleicos, así como las principales técnicas que permiten la expresión de proteínas y proteínas de fusión, mutagénesis dirigida y purificación de las mismas. Ser capaz de realizar manipulaciones de DNA recombinante que conduzcan a la expresión heteróloga de proteínas.
- Conocer las aplicaciones de los diferentes tipos de técnicas de mutagénesis para el estudio de la relación estructura-función en proteínas. Ser capaz de realizar técnicas de mutagénesis de proteínas.
- Conocer las técnicas de estudio de la relación estructura-función en proteínas.
- Conocer las aproximaciones experimentales para realizar determinaciones estructurales aplicadas al estudio de la relación estructura-función.
- Capacidad para evaluar y planificar métodos de expresión de proteínas recombinantes en diferentes vectores de expresión y hospedadores.
- Conocer los procesos biotecnológicos que implican la producción de proteínas recombinantes, mutadas o no, aplicados actualmente al campo de la salud humana y su aplicación al desarrollo de productos biotecnológicos.
- Conocer las aplicaciones que los estudios de relación estructura función tienen en la caracterización de proteínas eucariotas para el diseño de fármacos, como base del ciclo de investigación de nuevos medicamentos en el ámbito preclínico.

## PROGRAMA DE CONTENIDOS TEÓRICOS Y PRÁCTICOS

### TEÓRICO

- 1.- Técnicas de clonación de secuencias codificantes para la expresión de proteínas recombinantes. Aislamiento de ácidos nucleicos, retrotranscripción, amplificación por PCR y empleo de nuevos vectores especializados de clonación
- 2.- Sistemas de expresión avanzados en hospedadores procariontes, proteínas de fusión, nuevas proteasas para el procesamiento de proteínas de fusión, vectores alternativos en levaduras y células de insecto



3.- Sistemas de expresión en células eucariotas, sistemas de expresión transitoria y estable, uso de sistemas reporteros, sistemas específicos para el estudio de la interacción proteína-proteína, expresión de proteínas como sensores de metabolitos, efectores e iones en células eucariotas

4.- Técnicas avanzadas para el diseño de mutagénesis sitio específica en proteínas de interés en biomedicina o en biotecnología. Técnicas de caracterización de proteínas mutadas

5.- Importancia de la expresión y mutagénesis de proteínas en la validación de dianas moleculares para el diseño de fármacos

## PRÁCTICO

Mutagénesis, expresión recombinante y caracterización de diversas proteínas fluorescentes con nuevas propiedades espectrales y sensibilidad a iones

### PRÁCTICAS DE LABORATORIO:

- 1.- Mutagénesis sitio específica de la proteína fluorescente verde
- 2.- Transformación
- 3.- Crecimiento bacteriano
- 4.- Minipreps, digestión de DNA
- 5.- Electroforesis en gel de poliacrilamida de las proteínas mutadas
- 6.- Purificación de las proteínas mutadas

## BIBLIOGRAFÍA

### BIBLIOGRAFÍA FUNDAMENTAL

- Structure and Mechanism in Protein Science. A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding. First Edition, Fersht, A. (1999) W. H. Freeman & Co,
- Recombinant DNA. Second Edition, Watson JD, Gilman M, Witkowski J, Zoller M (1992) Scientific American books, WH Freeman
- Principles of Gene Manipulation. Sixth edition. Old RW y Primrose SB. (2002) Blackwell Scientific Publications
- Biopharmaceutical Drug Design and Development, Second Edition, edited by Susanna Wu-Pong and Yongyut Rojanasakul. (2008) Humana Press
- Pharmaceutical Biotechnology, Second Edition, Edited by Michael J. Groves (2006) CRC Press ISBN: 0-8493-1873- 4
- Genetic engineering: Manipulating the Mechanisms of Life, First Edition, Russ Hodge R. (2009) Facts On File, Inc.
- 

### BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA



- MD Girón, R Salto. From green to blue: Site-directed mutagenesis of the green fluorescent protein to teach protein structure–function relationships. *Biochemistry and Molecular Biology Education* 39 (4), 309–315
- Walsh G. “Second-generation biopharmaceuticals”. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 58 (2004): 185–196.
- Rosé JR, Salto R and Craik CS “Regulation of Autoproteolysis of the HIV-1 and HIV-2 Proteases with Engineered Amino Acid Substitutions”. *Journal of Biological Chemistry* 268 (1993): 11939–11945.
- Salto R, Babé LM, Li J, Rosé JR, Yu Z, Burlingame A, De Voss J, Sui Z, Ortiz de Motellano PR and Crack CS “In vitro Characterization of Nonpeptide Irreversible Inhibitors of HIV Proteases” *Journal of Biological Chemistry* 269 (1994): 10691–10698.
- Delgado A, Salto R, S. Marqués S and Ramos JL “Single Amino Acids Changes in the Signal Receptor Domain of XylR Resulted in Mutants that Stimulate Transcription in the Absence of Effectors”. *Journal of Biological Chemistry* 270 (1995): 5144–5150.
- *In Vitro Mutagenesis Protocols*, Trower, Michael K. (Ed.) (1996) *Methods in Molecular Biology*, Vol. 57. Springer
- *Green Fluorescent Protein*, Hicks, Barry W. (Ed.) (2002) *Methods in Molecular Biology*, Vol. 183. Springer.

## ENLACES RECOMENDADOS

<http://eu.idtdna.com/pages/decoded/decoded-articles/core-concepts/decoded/2012/01/10/methods-for-site-directed-mutagenesis>

<http://spdbv.vital-it.ch/TheMolecularLevel/GRHomePage.html>

<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>

## METODOLOGÍA DOCENTE

- MD01 Análisis de casos: En los que los estudiantes tendrán que aplicar conocimientos a las situaciones concretas planteadas, hacer apuestas por aquella solución más fundada en situaciones donde la información es incompleta, lo cuál es una práctica corriente entre los profesionales y servirá para elaborar ideas con las que diseñar proyectos de investigación.
- MD02 Trabajo colaborativo: Análisis y crítica de proyectos/artículos de innovación/investigación.
- MD03 Lecciones magistrales y asistencia a conferencias de profesorado invitado o conferencias organizadas por la universidad, etc. en donde el alumno pueda obtener una visión amplia del campo de estudio. Estas lecciones se complementarán con seminarios de discusión de ideas y aplicaciones.
- MD04 Prácticas de laboratorio o planta piloto y visitas a por unidades funcionales de empresas. En ambas se persigue el conocimiento de las diferentes metodologías de trabajo. En algunos casos sustituyen al análisis de casos, al tratarse de casos prácticos a resolver.

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



### EVALUACIÓN ORDINARIA

El artículo 17 de la Normativa de Evaluación y Calificación de los Estudiantes de la Universidad de Granada establece que la convocatoria ordinaria estará basada preferentemente en la evaluación continua del estudiante, excepto para quienes se les haya reconocido el derecho a la evaluación única final.

El sistema de calificaciones se expresará mediante calificación numérica de acuerdo con lo establecido en el Art. 5 del R. D 1125/2003, de 5 de septiembre, por el que se establece el sistema europeo de créditos y el sistema de calificaciones en las titulaciones universitarias de carácter oficial y validez en el territorio nacional. La calificación, será:

1. Realización de las prácticas y tareas especializadas 40%.
3. Elaboración y exposición de trabajos etc. 40%.
4. Participación y actitud 20%.

### 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 escrito sobre el contenido del módulo con un peso del 100% sobre la calificación

### 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.

La evaluación en tal caso consistirá en:

Examen escrito sobre el contenido del módulo con un peso del 100% sobre la calificación

