

Guía docente de la asignatura

Fecha de aprobación por la Comisión
Académica: 19/06/2024**Microcalorimetría: Aplicaciones
Biotecnológicas (M38/56/1/55)****Máster**

Máster Universitario en Biotecnología

MÓDULO

Modulo I: Docencia

RAMA

Ciencias

**CENTRO RESPONSABLE
DEL TÍTULO**

Escuela Internacional de Posgrado

Semestre

Segundo

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)

- Aspectos Instrumentales.
- Diseño y principios de funcionamiento de los calorímetros de barrido DASM 4, MC2 y VP-DSC.
- Experimento calorimétrico.
- 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.
- 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).

- Aspectos Instrumentales.
- Diseño y principios de funcionamiento de calorímetros isotérmicos de titulación,



prototipos e instrumentos comerciales.

- 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. Formulación y análisis de datos.

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.

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>

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

INFORMACIÓN ADICIONAL

Horarios de tutorías según establecido en el POD

Información de interés para estudiantado con discapacidad y/o Necesidades Específicas de Apoyo Educativo (NEAE): [Gestión de servicios y apoyos](https://ve.ugr.es/servicios/atencion-social/estudiantes-con-discapacidad) (<https://ve.ugr.es/servicios/atencion-social/estudiantes-con-discapacidad>).

