



Grado en Biotecnología 27107 - Técnicas instrumentales en biotecnología

Guía docente para el curso 2015 - 2016

Curso: , Semestre: , Créditos: 9.0

Información básica

Profesores

- **María Teresa Bes Fustero** tbes@unizar.es
- **Jesús Manuel Anzano Lacarte** janzano@unizar.es
- **Ricardo Javier López Gómez** riclopez@unizar.es
- **Pedro José Iñarrea Lasheras** inarrea@unizar.es
- **María José Villacampa Rubio** mvillaca@unizar.es
- **Raquel Villanueva Llop** rvillanu@unizar.es
- **Fermín Lampreave Palacios** lampreav@unizar.es
- **María Sebastián Valverde** 562348@unizar.es
- **Marta María Martínez Júlvez** mmartine@unizar.es
- **Vanesa Carrascón Díaz** vcarrasc@unizar.es

Recomendaciones para cursar esta asignatura

Se recomienda haber cursado Química y Biología General, y haber cursado o estar matriculado en Bioquímica.

Actividades y fechas clave de la asignatura

La distribución de las prácticas asignadas a cada área implicada en la docencia se llevará a cabo teniendo en cuenta que las bases teóricas para entender los procesos que se van a analizar se habrán explicado durante el primer cuatrimestre o se estarán estudiando al mismo tiempo en la asignatura anual de Bioquímica y Biología Molecular: a) durante el primer cuatrimestre se desarrollarán las prácticas asignadas al área de Química Analítica y las prácticas sobre hidratos de carbono, lípidos y ácidos nucleicos asignadas al área de Bioquímica y Biología Molecular y b) en el segundo cuatrimestre se desarrollarán las relativas a la purificación y caracterización de proteínas, también asignadas al área de Bioquímica y Biología Molecular.

Los grupos de prácticas se establecerán a principio de curso y las fechas concretas de las sesiones se anunciarán con la suficiente antelación, a través del ADD y también con carteles en el tablón de anuncios del Grado de Biotecnología,

Inicio

Resultados de aprendizaje que definen la asignatura

El estudiante, para superar esta asignatura, deberá demostrar los siguientes resultados...

- 1:** Utilización de las técnicas básicas en un laboratorio de Biotecnología
- 2:** Comprensión de los fundamentos físico-químicos y biológicos de las mismas
- 3:** Elección de la técnica más adecuada a la hora de separar y purificar biomoléculas.
- 4:** Aplicación de las técnicas básicas en un laboratorio de biotecnología a la resolución de problemas concretos
- 5:** Obtención y expresión de manera adecuada de resultados numéricos en los procesos de cuantificación y purificación de biomoléculas
- 6:** Elaboración de un diario de laboratorio con los resultados y las incidencias del día a día
- 7:** Interpretación y debate de los resultados experimentales en términos biológicos.
- 8:** Elaboración y defensa de informes

Introducción

Breve presentación de la asignatura

La aplicación tecnológica de los sistemas biológicos de organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos está en la base de la Biotecnología y supone conocer y manejar una serie de técnicas básicas en la separación y análisis de las macromoléculas biológicas. La asignatura se centra en los métodos fundamentales para la purificación y caracterización de dichos componentes biológicos mediante las técnicas más utilizadas en Biotecnología, tanto en el marco de la investigación como en la industria. Se hace especial énfasis en proporcionar una comprensión conceptual de dichas técnicas y de cómo se utilizan. No hay otra forma mejor de adquirir competencias en estas técnicas que llevándolas a cabo en el laboratorio.

Contexto y competencias

Sentido, contexto, relevancia y objetivos generales de la asignatura

La asignatura y sus resultados previstos responden a los siguientes planteamientos y objetivos:

Se trata de una asignatura obligatoria del módulo fundamental del Grado.

La Biotecnología utiliza una serie de metodologías en la manipulación de las biomoléculas, y el objetivo general de esta asignatura es ofrecer una formación básica en las mismas.

Contexto y sentido de la asignatura en la titulación

El conocimiento de las técnicas que se van a ensayar en esta asignatura es fundamental para que el alumno comprenda gran parte de las asignaturas de los cursos superiores, así como para que afiance los conocimientos teóricos que va a adquirir en este curso en la asignatura de Bioquímica. El alumno trabajará con los cuatro tipos fundamentales de biomoléculas: hidratos de carbono/glicanos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Será especialmente extensa la parte dedicada a proteínas, ya que se analizará también la función enzimática de algunas proteínas. Esta asignatura es eminentemente práctica, y cada alumno debe realizar su propio trabajo experimental en el laboratorio. Las prácticas están planteadas como pequeños proyectos con objetivos definidos, para cuya consecución se precisan entre dos y diez sesiones.

Al superar la asignatura, el estudiante será más competente para...

- 1:** Emplear y aplicar las técnicas básicas en un laboratorio de Biotecnología.
- 2:** Comprender los fundamentos físico-químicos y biológicos de estas técnicas.
- 3:** Manejarse en el laboratorio y ejecutar dichas técnicas
- 4:** Elaborar un diario de laboratorio con los resultados y las incidencias que se producen en el día a día.
- 5:** Planificar tareas sencillas en el laboratorio.
- 6:** Interpretar y discutir los resultados obtenidos en el laboratorio en términos biológicos.
- 7:** Respetar y aplicar las normas de seguridad en el laboratorio de Biotecnología.
- 8:** Además de estas competencias específicas, el alumno seguirá progresando en:
 - 1) La capacidad de observación.
 - 2) La capacidad para resolver los problemas.
 - 3) El análisis crítico de la información.
 - 4) La síntesis e integración de la información.

Importancia de los resultados de aprendizaje que se obtienen en la asignatura:

Las técnicas que el alumno va a aprender durante el transcurso de la asignatura son las técnicas básicas que, en algunos casos, el alumno va a utilizar en las asignaturas de los cursos superiores del Grado, y en otros casos, aunque no vuelva a utilizarlas en el transcurso del grado, le van a ser necesarias para ejercer su actividad profesional posterior, tanto en laboratorios de investigación, como en empresas biotecnológicas.

Evaluación

Actividades de evaluación

El estudiante deberá demostrar que ha alcanzado los resultados de aprendizaje previstos mediante las siguientes actividades de evaluación

1: Cada una de las 5 secciones de que consta la asignatura será evaluada de forma independiente sobre 10 puntos. La contribución de cada sección a la calificación final de la asignatura será de:

Sección Analítica: 15%

Sección Lípidos: 15%

Sección Azúcares y glicoproteínas: 15%

Sección Ácidos nucleicos: 10%

Sección Proteínas: 45%

La calificación final de la asignatura será la suma de todas las secciones siempre y cuando cada una de ellas haya sido evaluada como aprobada (calificación de 5 o superior a 5 sobre 10 puntos). En el caso de no aprobar todas las secciones, la calificación que figurará en el acta oficial de la convocatoria (junio o septiembre) será la menor de las obtenidas.

2:

Dado el carácter experimental de la asignatura se considera obligatoria la realización de las prácticas en el laboratorio y la presentación de los correspondientes informes y exposiciones. En caso de no realizarlas o de ausencias no justificadas (máximo de dos días a lo largo de la asignatura) el alumno tendrá que realizar y superar un examen práctico en el laboratorio antes del examen teórico-práctico que se indica en el Apartado 2.

3:

LA EVALUACIÓN DE CADA UNA DE LA 5 SECCIONES SE REGIRÁ DE ACUERDO A LOS SIGUIENTES APARTADOS Y CRITERIOS GENERALES:

APARTADO 1: 40%, evaluación del trabajo práctico

A.- LABORATORIO: Evaluación individual de la realización de las prácticas.

Se valorará comportamiento, seguimiento normas seguridad, interés, habilidad en la manipulación y conocimientos, asignando puntuaciones discretas:

APTO ++ (2 puntos): rendimiento adecuado

APTO + (1 punto): rendimiento básico.

APTO (0 puntos): actitud pasiva.

NO APTO: prácticas no realizadas o ausencia y retrasos no justificados o no justificables, impide seguir avanzando en la evaluación.

B.- INFORMES (por parejas): Evaluación de la presentación (escrita y oral) y

discusión oral de los resultados obtenidos, asignando puntuaciones discretas:

APTO ++ (2 puntos)

APTO + (1 puntos)

APTO (0 puntos)

NO APTO: resultados no presentados, impide seguir avanzando en la evaluación.

Se valorarán: a) resultados numéricos dentro del intervalo esperado y expresión de los mismos en las unidades correctas, b) Capacidad de interpretación desde el punto de vista bioquímico de los resultados experimentales y c) de manera general, la claridad, brevedad y formato del informe, así como la comprensión de la utilidad de las técnicas desarrolladas.

Los informes escritos responderán al esquema: objetivos, resultados, discusión y conclusiones y pueden contener, asimismo, las respuestas a las diversas cuestiones que se hayan planteado en el guión de prácticas. La presentación de resultados e informes escritos se llevará a cabo, por parejas, el último día de cada turno de prácticas o en la fecha indicada por los profesores correspondientes.

APARTADO 2: 60% evaluación de conocimientos y su adecuado uso.

Prueba escrita individual (llamada examen), sobre los contenidos prácticos y teóricos de la asignatura. La prueba puede contener preguntas y ejercicios a resolver y contestar de forma justificada o formulados como preguntas de tipo test de respuesta única.

Esta prueba será independiente para cada sección y durará entre 1-2 horas dependiendo de la extensión de cada una de las secciones.

Tendrá lugar al finalizar el curso en la fecha asignada por la Facultad.

Las calificaciones de los dos apartados se sumarán siempre y cuando se haya obtenido en cada uno de ellos al menos el 50% de la calificación posible.

En el caso de no superar alguno de los dos apartados en alguna de las secciones, la calificación final en esa sección será la menor de las obtenidas.

4:

CRITERIOS ESPECÍFICOS DE EVALUACIÓN DEL TRABAJO PRÁCTICO DEL ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA

A) Evaluación del comportamiento en el laboratorio: Se hará un seguimiento estricto de la puntualidad y el cumplimiento de las normas obligatorias de seguridad en el laboratorio. En especial, el incumplimiento de las normas de seguridad supondrá la expulsión inmediata del laboratorio y la consideración de la práctica como suspendida.

B) Elaboración y presentación de un informe escrito

- Se entregará al profesorado teniendo como fecha límite una semana a contar desde la finalización de las sesiones de laboratorio (para cada grupo).

- La entrega del informe se hará en formato electrónico (pdf) a través de la página web de Moodle 2.0 de la asignatura de acuerdo a las instrucciones que se den en su momento.

- El informe deberá elaborarse en función del apartado "RESULTADOS" de cada guión de prácticas. Esto incluye rellenar las tablas y apartados con los resultados solicitados (incluyendo los cálculos) y contestar a las preguntas.

- En los informes se valorará:

a) Resultados numéricos dentro del intervalo esperado.

b) Expresión de los resultados con las unidades correctas.

c) Selección de las ecuaciones adecuadas y cálculos realizados con las mismas.

d) Capacidad de interpretación de los resultados experimentales obtenidos.

e) Calidad y profundidad de las contestaciones a las cuestiones planteadas en el guión de prácticas.

f) En el caso de rectas de calibrado se valorará positivamente la inclusión del gráfico señal frente a concentración, el ajuste lineal obtenido (incluyendo el parámetro R²) y una discusión sobre la calidad de la misma.

g) De manera general, la claridad y formato del informe, así como la comprensión de la utilidad de las técnicas analíticas utilizadas.

CONSIDERACIONES ESPECÍFICAS PARA EL DESARROLLO DE LA PRUEBA ESCRITA DEL ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA

Durante el examen se puede disponer de los guiones de prácticas pero de ningún otro material.

5:

El temario que los estudiantes deben utilizar para preparar las diferentes pruebas se encuentra en el apartado "Actividades y recursos" de esta misma guía docente

Actividades y recursos

Presentación metodológica general

El proceso de aprendizaje que se ha diseñado para esta asignatura se basa en lo siguiente:

Actividad Formativa 1: Adquisición de los conocimientos básicos de la materia mediante clases de tipo práctico en grupos reducidos

Metodología:

- 1.1.- Introducción teórica a las técnicas empleadas
- 1.2.- Trabajo práctico en el laboratorio.

Actividad Formativa 2: Desarrollo de los conocimientos adquiridos

Metodología:

- 2.1.- Interpretación, discusión y presentación oral de los resultados obtenidos
- 2.2.- Resolución de problemas y casos prácticos relacionados con el trabajo práctico realizado en el laboratorio.
- 2.3.- Elaboración y presentación de informes (escrito y oral).

Actividades de aprendizaje programadas (Se incluye programa)

El programa que se ofrece al estudiante para ayudarle a lograr los resultados previstos comprende las siguientes actividades...

1:

El programa se desarrollará en 19 sesiones de prácticas de 4 horas cada una, más una sesión de seminarios de 2 horas y dos sesiones de presentación y discusión de resultados de 4 horas cada una.

AREA DE QUÍMICA ANALÍTICA

Sesión 1. Seguridad en el laboratorio. Concentración de una disolución. Medida del pH, disoluciones amortiguadoras y poder amortiguador.

Sesión 2. Aplicación a la cuantificación de biomoléculas de la espectroscopía UV-Visible. Ley de Beer-Lambert y coeficiente de extinción. Medida de la concentración de hierro por formación de complejo con tiocianato.

Sesión 3. Principios de fluorescencia molecular. Estudios estructurales de proteínas y seguimiento de reacciones enzimáticas.

Seminario. Tratamiento estadístico de resultados cuantitativos obtenidos en el laboratorio.

2:

AREA DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

Sesión 1. Teoría general de lípidos. Extracción de lípidos totales por el método de Folch.

Sesión 2. Cromatografía en capa fina aplicada a la separación de lípidos. Preparación de ésteres metílicos de ácidos grasos.

Sesión 3. Cromatografía en capa fina de fosfolípidos. Introducción a la cromatografía de gases. Interpretación de los datos de cromatografía de gases de los ésteres metílicos.

Sesión 4. Separación de glicoproteínas por cromatografía de afinidad. Caracterización por inmunodifusión doble (Ouchterlony) de las fracciones separadas.

Sesión 5. Tratamiento con neuraminidasa: análisis mediante electroforesis.

Sesión 6. Determinación y caracterización de azúcares en una muestra.

Sesión 7. Elaboración, presentación, interpretación y discusión de resultados obtenidos en las sesiones 1-6.

Sesión 8. Obtención de ácidos nucleicos.

Sesión 9. Separación de ácidos nucleicos por electroforesis en geles de agarosa, detección, cuantificación y valoración de la pureza de la preparación.

Sesión 10. Introducción a la purificación de proteínas. Aislamiento y caracterización de proteínas. Homogeneización de tejidos o de células. Enriquecimiento por precipitación fraccionada.

Sesión 11. Diálisis y preparación de las columnas para la separación de proteínas mediante cromatografía de intercambio iónico y de afinidad.

Sesión 12. Separación de proteínas mediante cromatografía en columna. Cuantificación de proteínas mediante métodos espectroscópicos. Criterios de pureza.

Sesión 13. Medida de actividad enzimática específica a lo largo de las distintas etapas de purificación de una enzima.

Sesión 14. Cuantificación de proteínas totales por el método de Bradford

Sesión 15. Determinación de los parámetros cinéticos de una enzima, medida de actividades enzimáticas para la determinación de K_m y k_{cat} .

Sesión 16. Electroforesis desnaturalizante en geles de poliacrilamida (PAGE) y electrotransferencia: introducción teórica y preparación de geles

Sesión 17. A) Electroforesis aplicada a las muestras obtenidas en los distintos pasos de la purificación como criterio de pureza y determinación de peso molecular. B) B) Transferencia a membranas de PVDF: preparación de muestra para secuenciación del extremo N-terminal.

Sesión 18. Sesión de resolución de cuestiones y ejercicios, finalización de cálculos y preparación de informes (aula de informática).

Sesión 19. Exposición de los resultados obtenidos en la purificación de proteínas e incidencias a lo largo del proceso, debate en clase y resolución de cuestiones.

3:

Bibliografía

Además de los textos básicos o complementarios podrá ofrecerse al alumno bibliografía específica en forma de páginas web especializadas y de trabajos de investigación cuyos textos o referencias se incluirán en la página de la asignatura en el ADD.

Planificación y calendario

Calendario de sesiones presenciales y presentación de trabajos

Para cada una de las sesiones en las distintas áreas los alumnos se dividirán en 4-5 grupos en función de las necesidades de cada práctica y la disponibilidad de los laboratorios. Las sesiones tendrán lugar en horario de mañana, de 9 a 13h. Estos grupos de prácticas, junto con los de las prácticas de Química Física, los organizará la coordinadora del grado una vez conocida la matrícula para evitar solapamientos. La composición de los grupos y la distribución de los horarios de los grupos concretos se anunciará en el tablón de anuncios del Grado en Biotecnología y en el ADD.

Las pruebas escritas tendrán lugar en el lugar y fecha que determine la Facultad de Ciencias y se podrá consultar en su página web: <http://ciencias.unizar.es/web/horarios.do>

Referencias bibliográficas de la bibliografía recomendada

- Bonner, Philip L. R.. Protein purification / Philip L. R. Bonner . New York [etc.] : Taylor & Francis, 2007
- Bregman, Allyn A.. Laboratory investigations in cell and molecular biology / Allyn Bregman . 4th ed. New York : J. Wiley, c2002

- Christie, W.W. Lipid analysis . - 3a edición Bridgwater : The Oily Press. P.J. Barnes & Associates, 2003
- Gel electrophoresis : a practical approach / edited by B. D. Hames Oxford [etc.] : Oxford University Press, 1998
- M.T. Bes, J. Sancho, M.L. Peleato, M. Medina, C. Gómez-Moreno and M.F. Fillat. Purification of coloured photosynthetic proteins for understanding protein isolation principles. EN: Biochemistry and molecular biology education. 31, 119-122 (2003)
- Naval, J., Calvo, M., Lampreave, F. And Piñeiro, A. Affinity chromatography of serum albumin: an illustrative laboratory experiment on biomolecular interactions. EN: Biochemical education : a quarterly publication of the International Union of Biochemistry. 11: 5-8, 1983
- Principles and techniques of biochemistry and molecular biology / edited by Keith Wilson and John Walker. - 6th ed. Cambridge [etc.] : Cambridge University Press, cop. 200
- Protein purification methods : A practical approach / Harris, E.L.V. and Angal, S. (eds.). Reimp. Oxford : IRL Press, 2001
- Sancho, J., Peleato, M.L., Gómez-Moreno, C. y Edmondson, D.E.. Purification and properties of ferredoxin-NADP+ oxidoreductase from the nitrogen-fixing cyanobacteria *Anabaena variabilis*. En: Arch. Biochem. Biophys. 260 : 200-207, 1988
- Técnicas instrumentales de análisis en bioquímica / Juan Manuel García-Segura... [et al.] . [1ª ed.], 4ª reimp. Madrid : Síntesis, D.L.2008