



Grado en Biotecnología 27107 - Técnicas instrumentales en biotecnología

Guía docente para el curso 2012 - 2013

Curso: 2, Semestre: 0, Créditos: 9.0

Información básica

Profesores

- **María Teresa Bes Fustero** tbes@unizar.es
- **Pedro José Iñarrea Lasheras** inarrea@unizar.es
- **María Milagros Medina Trullenque** mmedina@unizar.es
- **Marta María Martínez Júlvez** mmartine@unizar.es
- **Ricardo Javier López Gómez** riclopez@unizar.es
- **Eduardo Bolea Morales** edbolea@unizar.es
- **Fermín Lampreave Palacios** lampreav@unizar.es
- **María José Villacampa Rubio** mvillaca@unizar.es
- **Laura Botello Morte** lbotello@unizar.es
- **Olga María Abián Franco** oabifra@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 primera parte de la asignatura, que consta de la materia asignada al área de Química Analítica y de las prácticas de Bioquímica sobre hidratos de carbono y lípidos, se desarrollará durante el primer cuatrimestre. La segunda parte, relativa a la purificación y caracterización de proteínas y ácidos nucleicos, se llevará a cabo en el segundo cuatrimestre, teniendo en cuenta que las bases teóricas para entender estos procesos se habrán explicado durante el primer cuatrimestre o se estarán estudiando al mismo tiempo en la asignatura anual de Bioquímica. Los grupos de prácticas se establecerán al 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 aula y en el tablón de anuncios del Grado de Biotecnología, localizado en el exterior del Departamento de Bioquímica, 2º piso de la Facultad de Ciencias, edificio A.

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 que está en la base de la Biotecnología 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 afianze 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 ha de mejorar:
 - 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: La prueba escrita consistirá en una serie de preguntas tipo problema o caso sobre los contenidos prácticos de la asignatura. Esta valoración supondrá el 40% de la nota final.

2: El 60% restante lo aportará la evaluación continua del trabajo del alumno en el laboratorio y la interpretación de los resultados obtenidos en el laboratorio a través de la presentación de un informe de prácticas, así como la resolución de cuestiones y problemas en el laboratorio o en el aula. Los resultados de las sesiones de prácticas y su interpretación podrán ser también expuesto oralmente y debatido con los compañeros y el profesor, contribuyendo también a la evaluación.

Los alumnos presentarán en las fechas que indiquen los profesores un informe de las prácticas por cuatrimestre. En el área de Bioquímica, estos informes tendrán una longitud máxima de 30 páginas, con doble separación y tamaño de letra 12 puntos. Los criterios para valorar el informe de prácticas y su exposición oral son los siguientes:

- ¿sigue una estructura coherente en bloques (breve introducción del problema a estudiar y de los métodos empleados, resultados obtenidos, discusión e interpretación de los resultados)?
- ¿describe de forma clara y adecuada el planteamiento del problema
- ¿describe de forma clara y conveniente los métodos utilizados y los comprende?
- La descripción de los resultados, ¿sigue un orden lógico y secuencial?
- ¿interpreta de forma correcta los resultados?
- ¿la exposición de los resultados en clase ha sido clara y ordenada?

Nota: Dado el carácter experimental de la asignatura se considera obligatoria la realización de las prácticas en el laboratorio. En caso de faltar dos días a lo largo de la asignatura el alumno tendrá que realizar un examen práctico en el laboratorio, además del examen teórico-práctico que realizarán los compañeros que hayan asistido a todas las sesiones presenciales.

3: Además de la modalidad de evaluación señalada en el punto anterior, el alumno tendrá la posibilidad de ser evaluado en una prueba global, que será eminentemente práctica y que juzgará la consecución de los resultados del aprendizaje señalados anteriormente.

4: 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 (8 ECTS).

Metodología:

- 1.1. Trabajo práctico en el laboratorio.
- 1.2. Interpretación de los resultados.
- 1.3. Presentación oral y discusión.

Actividad Formativa 2: Resolución de problemas y casos prácticos relacionados con el trabajo práctico realizado en el laboratorio (1 ECTS).

Los guiones de las prácticas, que incluirán las cuestiones y problemas a resolver en la actividad formativa 2, estarán a disposición del alumno en el Anillo Digital Docente. Esta herramienta será utilizada también como mecanismo de comunicación de la programación del curso y de las diferentes incidencias que pudieran ocurrir durante el mismo.

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 realizará en 21 sesiones de prácticas de 4 horas cada una, más una sesión de seminarios de 2 horas y una sesión de discusión de Resultados-Congreso de 4 horas.

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 espectroscopia UV-Visible. Ley de Beer-Lambert y coeficiente de extinción. Medida de la concentración de proteínas por el método de Lowry.

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. Cromatografía de gases.

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. Aislamiento de glicoproteínas por cromatografía de afinidad. Caracterización por inmunodifusión doble (Ouchterlony) de las fracciones separadas.

Sesión 5. Análisis de glicanos de glicoproteínas.

Sesión 6. Teoría general de azúcares. Determinación y caracterización de azúcares en una muestra. Determinación de poder reductor en azúcares.

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

Sesión 8. Introducción a la purificación de proteínas. Aislamiento y caracterización de proteínas. Homogeneización de tejidos o de células. Enriquecimiento por precipitación fraccionada. Diálisis.

Sesión 9. Preparación del material biológico, diálisis, y de las columnas cromatográficas para la separación de proteínas mediante cromatografía de intercambio iónico y de afinidad.

Sesión 10. Separación de proteínas mediante cromatografía en columna. Cuantificación de proteínas mediante métodos espectroscópicos. Criterios de pureza.

Sesión 11. Medida de actividad enzimática específica a lo largo de las distintas etapas de purificación de una enzima.

Sesión 12. Cuantificación de proteínas totales, Bradford

Sesión 13. Electroforesis para la determinación de los pesos moleculares de las proteínas. Transferencia a membranas de PVDF e inmunoblot. Teoría y preparación de geles.

Sesión 14. Electroforesis y transferencia aplicada a las muestras obtenidas en los distintos pasos de la purificación como criterio de pureza. Preparación de muestra para determinación de N-terminal.

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

Sesión 16. Aula de Informática: N-terminal, análisis estructural, determinación de parámetros de la proteína. Elaboración de la tabla de purificación y preparación de la presentación de resultados.

Sesión 17. Obtención de ácidos nucleicos.

Sesión 18. Separación de ácidos nucleicos por electroforesis en geles de agarosa, detección, cuantificación y

valoración de la pureza de la preparación.

CONGRESO. 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

[Enlace permanente a esta asignatura](#)

- Bregman A. "Laboratory Investigations in Cell and Molecular Biology". 4a Ed. John Wiley and Sons. New York. 2001.
- Christie, W.W. "Lipid analysis". 3a edición. The Oily Press. P.J. Barnes & Associates. Bridgwater. UK. 2003.
- García-Segura, J.M., Gavilanes, J.G., Martínez del Pozo, A. y Montero, F.. "Técnicas instrumentales de análisis en Bioquímica". Ed. Síntesis. Madrid. 1999. Reimpresión en 2007.
- Wilson K. and Walker J. "Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology". Cambridge University Press. 6th Edition. 2005
- Bonner P.L.R. "Protein purification". Taylor and Francis Group. 2007
- Hames, B.D. and Rickwood, D. (eds.) "Gel electrophoresis of proteins. A practical approach". 3a edición. IRL Press. Oxford. 1998.
- Harris, E.L.V. and Angal, S. (eds.) "Protein purification methods. A practical approach". IRL Press. Oxford. 1989. Reimpresión en 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*". Arch. Biochem. Biophys. 260 : 200-207, 1988.
- 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. 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. Biochem. Educ. 11: 5-8, 1983.

En la web:

- <http://www.lipidlibrary.com>
- <http://www.usm.maine.edu/~newton/TANES/TLCAPP.HTML>:

(Tutorial sobre TLC (Universidad de Maine, EEUU): <http://www.chromatography-online.org>

Planificación y calendario

Calendario de sesiones presenciales y presentación de trabajos

Para las sesiones del área de Analítica, los alumnos se dividirán en 5 grupos de no más de 12 alumnos cada uno. Para las sesiones del área de Bioquímica, los alumnos se dividirán en 3 grupos de no más de 20 alumnos cada uno. 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 el coordinador 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.

La presentación de informes será antes del período de exámenes, pero en todo caso después de finalizar las sesiones de laboratorio y se anunciará convenientemente. La prueba escrita tendrá lugar a final de curso 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 P.L.R. Protein purification. Taylor and Francis Group, 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*. Arch. Biochem. Biophys. 260 : 200-207, 1988
- Técnicas instrumentales de análisis en bioquímica / Juan Manuel García-Segura... [et al.] Madrid : Síntesis, D.L.1996