

**FITXA IDENTIFICATIVA****Dades de l'Assignatura**

<b>Codi</b>	33199
<b>Nom</b>	Tecnologia de proteïnes
<b>Cicle</b>	Grau
<b>Crèdits ECTS</b>	4.5
<b>Curs acadèmic</b>	2024 - 2025

**Titulació/titulacions**

<b>Titulació</b>	<b>Centre</b>	<b>Curs</b>	<b>Període</b>
1102 - Grau Biotecnologia	Facultat de Ciències Biològiques	4	Segon quadrimestre

**Matèries**

<b>Titulació</b>	<b>Matèria</b>	<b>Caràcter</b>
1102 - Grau Biotecnologia	109 - Tecnologia de Proteïnes	Optativa

**Coordinació**

<b>Nom</b>	<b>Departament</b>
CASINO FERRANDO, PATRICIA	30 - Bioquímica i Biologia Molecular
MINGARRO MUÑOZ, ISMAEL	30 - Bioquímica i Biologia Molecular

**RESUM**

Les proteïnes juguen papers crucials en gairebé tots els processos biològics, en catàlisi, en transmissió de senyals, i com a suport estructural. Aquesta àmplia varietat de funcions sorgeix de l'existència de milers de proteïnes, cadascuna d'elles amb una estructura tridimensional distintiva, que les capacita per interaccionar amb una o diverses molècules dins d'un ampli ventall. Un dels principals objectius de la biotecnologia actual és determinar com les seqüències d'aminoàcids especifiquen les conformacions, i d'aquesta manera les funcions, de les proteïnes. Només amb la comprensió detallada d'aquest binomi estructura/funció ens podríem plantejar noves aproximacions biotecnològiques de forma racional.

Freqüentment el primer pas d'aquests estudis és la purificació de la proteïna d'interès, bé siga per a la realització d'estudis estructurals, funcionals o d'aplicació biotecnològica. Les proteïnes es poden separar unes d'altres sobre la base de la seva solubilitat, pes, càrrega, i capacitat d'unió, entre altres característiques. Un cop s'ha purificat una proteïna, es poden iniciar estudis funcionals o millores biotecnològiques. Moltes seqüències de proteïnes, sovint deduïdes a partir de seqüències de genomes, són ara accessibles en grans bases de dades de seqüències i es comença a poder predir i dissenyar la seva estructura i fins i tot la seva funció gràcies a algoritmes com AlphaFold.



L'exploració de les proteïnes amb un ampli ventall de tècniques físiques i químiques actualment disponibles ha enriquit el nostre grau de coneixement de les bases moleculars de la vida. Aquestes tècniques, tant de disseny racional com d'evolució molecular dirigida, fan possible abordar algunes de les qüestions més complexes de la biologia en termes moleculars, el que sens dubte redundarà en la millora d'un gran nombre de processos biotecnològics.

## CONEIXEMENTS PREVIS

### Relació amb altres assignatures de la mateixa titulació

No heu especificat les restriccions de matrícula amb altres assignatures del pla d'estudis.

### Altres tipus de requisits

L'assignatura és un pas endavant en el coneixement de la bioquímica de les proteïnes, es per això que està clarament relacionada amb les assignatures Bioquímica i Mètodes en bioquímica i biologia molecular de segon curs, així com Biologia Molecular, Mètodes en Immunologia i Mètodes en biologia molecular i enginyeria genètica de tercer curs.

L'alumne ha de conèixer l'estructura de les principals macromolècules biològiques, i les forces que les estableixen i permeten les seves interaccions específiques amb altres molècules. Així mateix l'alumne haurà de conèixer els mecanismes de les reaccions enzimàtiques, la seva cinètica i la seva regulació.

### 1102 - Grau Biotecnologia

- Determinar els marcadors moleculars adients en processos de millora amb finalitats biotecnològiques.
- Dissenyar processos de manipulació i d'obtenció de productes biotecnològics.
- Ser capaç d'abordar l'anàlisi de l'estructura de macromolècules a fi de modificar-la amb finalitats biotecnològiques.

- Consolidar els coneixements sobre l'estructura i la funció de les proteïnes adquirits al llarg dels cursos precedents.
- Adquirir una perspectiva global del funcionament cel·lular on quede clar el paper absolutament principal que desenvolupen les proteïnes en tots els tipus cel·lulars.
- Exercitar el mètode comparatiu en biotecnologia.
- Adquirir una visió filogenètica i evolutiva de les proteïnes.
- Familiarització amb la bibliografia actual i les bases de dades relacionades amb les seqüències i estructures de les proteïnes.
- Exercitar la capacitat de síntesi de la informació científica.
- Exercitar la capacitat d'aplicació a un cas concret de conceptes, teories i models generals



## DESCRIPCIÓ DE CONTINGUTS

### 1. Obtenció i estructura de proteïnes

#### Principis estructurals de proteïnes

Descripció i constitució química. Interaccions físiques que determinen les propietats de les proteïnes. Escalles de hidrofobicitat d'aminoàcids. Motius estructurals: hèlix-alfa, fulles-beta. Dominis. Motius estructurals en proteïnes de membrana.

#### Plegament i estabilitat de proteïnes

Concepte. Paradoxa de Levinthal. Plegament in vitro. Mecanismes de plegament. Plegament in vivo. Xaperones. Mecanisme de funcionament GroEL / Groes. Plegament de proteïnes de secreció i de proteïnes de membrana. Predicció de les estructures. AlphaFold.

#### Estratègies alternatives per a combatre la resistència antimicrobiana

Mecanismes de resistència i diferents estratègies antimicrobianes.

#### Proteïnes i enzims d'interès biotecnològic

Perspectiva històrica. Propietats cinètiques. Proteïnes i enzims d'interès biotecnològic. Exemples d'enzims i proteïnes utilitzats majoritàriament en la indústria biotecnològica.

#### Extracció, purificació i estabilitat de proteïnes.

Propietats de les proteïnes utilitzades en la seva purificació. Mètodes d'extracció i separació. Proteïnes de fusió: purificació a gran escala. Mecanismes de desnaturalització.

#### Obtenció de proteïnes recombinants

Raons per a l'obtenció de proteïnes recombinants. Estratègies de clonació. Vectors de clonació i sistemes d'expressió en procariotes i eucariotes. Renaturalització de proteïnes a partir de cosos d'inclusió. Estratègies per a millorar l'expressió de proteïnes recombinants en *E. coli*.

### 2. Aplicacions biotecnològiques

#### Immobilització de Proteïnes

Introducció. Mètodes d'immobilització. Immobilització de cofactors. Característiques dels enzims immobilitzats. Aplicacions en la indústria, la medicina i la investigació.

#### Biosensors

Concepte de biosensor i la seva evolució històrica. Tipus de biosensors. El component bioactiu: enzims i anticossos. Tipus de transductors: electroquímics, òptics i piezoelèctrics. Micro- i nanopalanques. Exemples de biosensors d'aplicació industrial.

#### Anticossos catalítics

Introducció: disseny i generació d'anticossos catalítics. Abzimas versus enzims. Exemples de reaccions disponibles. Informació estructural aplicada a la comprensió dels mecanismes de catàlisi. Exemples. Futur dels anticossos catalítics. Nanobodies versus Abzims



### Enzimologia en mitjans no-aquosos

Introducció: cosolventes, mesclures bifàsiques, micelles inverses, solvents orgànics. Avantatges de l'ús d'enzims en medis no aquosos. Regles bàsiques per a la utilització d'enzims en medis no aquosos. Efecte del dissolvent en els paràmetres cinètics. Estratègies per a l'augment de l'activitat dels enzims en aquests mitjans.

### Estratègies de modificació de pèptids i proteïnes

Modificació química clàssica. Etiquetes d'afinitat i fotoafinitat. Modificació enzimàtica mitjançant la utilització de transglutaminases i glicosiltransferases. La GFP: propietats i aplicacions a l'estudi de les interaccions proteïna-proteïna (FRET i BiFC).

### Encapsulació i alliberament controlat de fàrmacs polipeptídics

Disseny i desenvolupament d'estratègies per a la formulació i administració de pèptids i proteïnes. Administració utilitzant microesferes polimèriques i liposomes. PEGylation. Polímers conjugats. Desenvolupament de sistemes i / o vectors per a l'administració dirigida.

## 3. Disseny de proteïnes

### Evolució molecular dirigida

Mètodes per a la generació de diversitat aleatòria. Selecció genètica i rastreig visual. Evolució d'enzims termostables. Evolució d'enzims per a la seva utilització en ambients artificials. Evolució de l'especificitat i de la enantioselectivitat. Exemples.

### Peptidotecas combinatòries: químiques i biològiques

Concepte. Peptidoteques d'expressió en sistemes biològics ("phage display"): tipus, construcció, característiques, aplicacions i perspectives. Evolució dirigida d'anticossos. Química combinatòria. Síntesi de pèptids en fase sòlida. Mètodes de preparació de peptidoteques sintètiques: iteratiu i rastreig posicional. Exemples.

## 4. Classes pràctiques

### Impressió molecular d'enzims lipolítiques basada en protocols d'activació interfacial.

Consisteix en l'atrapament de conformacions actives de lipases per a la posterior utilització en mitjans no aquosos, amb la finalitat d'augmentar la seva eficiència catalítica en aquest tipus d'entorns d'especial interès per les aplicacions biotecnològiques.

### Estudi d'interaccions hèlix-hèlix.

Es realitzarà la sobreexpressió heteròloga, purificació en columna de Ni<sup>2+</sup>-agarosa i anàlisi electroforètic de proteïnes amb capacitat de dimerització. El sistema model utilitzat ens permetrà l'estudi de les interaccions entre hèlixs transmembrana com una aproximació experimental a l'estudi estructural del plegament de proteïnes de membrana.



## VOLUM DE TREBALL

ACTIVITAT	Hores	% Presencial
Classes de teoria	33,00	100
Pràctiques en laboratori	12,00	100
<b>TOTAL</b>	<b>45,00</b>	

## METODOLOGIA DOCENT

Classes teòriques: exposició en aula convencional dels temes del programa durant 26 h. Eventualment, algun aspecte concret del temari pot ser exposat per un especialista convidat. De la mateixa manera, es procurarà assistir a seminaris de recerca relacionats amb el món de les proteïnes que es puguin impartir durant el període lectiu en Centres de recerca a prop de la Universitat.

Classes pràctiques: són d'assistència obligatòria. Consistiran en la realització en un laboratori docent de les sessions pràctiques descrites anteriorment durant 12 h. Els alumnes realitzaran els experiments proposats treballant en parelles. En finalitzar les pràctiques els alumnes hauran de lliurar una memòria de pràctiques en què presentin els resultats experimentals obtinguts al mateix temps que discuteixin els seus resultats en el context de l'estructura i funció de les proteïnes des d'un punt de vista biotecnològic.

Seminaris: els estudiants exposaran en públic, un article de recerca directament relacionat amb els continguts del curs o de qualsevol innovació biotecnològica de la utilització de proteïnes. Tots els estudiants hauran d'elaborar un breu resum de tots els articles objecte dels seminaris.

Al llarg del curs es promourà la participació de l'estudiantat en diferents activitats científiques de l'àrea d'interès de la tecnologia de proteïnes que tinguen lloc en València.

## AVALUACIÓ

El caràcter quadrimestral de l'assignatura descarta la possibilitat de realitzar exàmens parcials. L'avaluació dels coneixements teòrics (8 punts) es realitzarà mitjançant un examen escrit en el qual s'inclourà alguna pregunta relativa a les sessions pràctiques (2 punts).

També s'avaluarà la qualitat de l'exposició oral, la participació tant en les classes del professor com en els seminaris dels estudiants, així com les ressenyes de les conferències i activitats fora de l'aula, i els resums escrits dels articles utilitzats en els seminaris d'alumnes i les memòries presentades de les pràctiques per modular la nota final.



## REFERÈNCIES

### Bàsiques

- BAHAR I. et al. (2017). Protein Actions: principles & modeling. Garland Science.
- FABER, K. (1997). Biotransformations in organic chemistry: a textbook. Springer-Verlag, Berlin.
- GÓMEZ-MORENO, C. & SANCHO, J. (2003). Estructura de Proteínas. Ariel Ciencia.
- KESSEL A. & BEN-TAL N. (2018). Introduction to PROTEINS structure, function, and motion. CRC Press.
- KURIYAN J. et al. (2013) The Molecules of Life. Garand Science.
- LESK, A.M. (2001). Introduction to Protein Architecture. Oxford University Press.
- LESK, A.M. (2004). Introduction to Protein Science. Oxford University Press.
- LILJAS A. et al. (2017). Structural Biology. 2nd Ed. World Scientific.
- PETSKO, G.A. & RINGE, D. (2004). Protein Structure and Function. New Science Press Ltd.
- RAMIREZ-ALVARADO, M. et al. (2010). Protein misfolding diseases. John Wiley & Sons Inc.
- STEVEN A.C. et al. (2016). Molecular biology of Assembies and Machines. Garland Science.
- WILLIAMSON, M. (2012). How proteins work. Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC.