FICHA IDENTIFICATIVA

Datos de la Asignatura

Código	33177
Nombre	Prácticas Integradas de Métodos
Ciclo	Grado
Créditos ECTS	4.5
Curso académico	2017 - 2018

Titulación(es)

Titulación	Centro	Curso	Periodo
1102 - Grado en Biotecnología	Facultad de Ciencias Biológicas	2	Segundo cuatrimestre

Materias

Titulación	Materia	Carácter
1102 - Grado en Biotecnología	85 - Metodología Bioquímica	Obligatoria

Coordinación

Nombre	Departamento
PEÑARRUBIA BLASCO, DOLORES	30 - Bioquímica y Biología Molecular
SENDRA PEREZ, RAMON	30 - Bioquímica y Biología Molecular

RESUMEN

El desarrollo de los métodos de análisis en bioquímica y biología molecular ha tenido, y continuará teniendo, un gran impacto en el desarrollo de la biotecnología. Esta asignatura pretende que el alumno conozca, entre en contacto y llegue a familiarizarse con aquellas las técnicas experimentales de bioquímica y biología molecular más comunes en la actualidad. Se intentará además que el estudiante desarrolle habilidades prácticas específicas indispensables en una disciplina científica empírica. La asignatura introduce a los estudiantes en el manejo de instrumental básico del laboratorio de bioquímica y biología molecular, en la obtención de parámetros físico-químicos de biomoléculas y en la interpretación de aquellos datos resultantes.

El objetivo del programa es complementar los conocimientos sobre las técnicas y metodología empleadas en laboratorios de bioquímica, explicadas en la asignatura teórica (Métodos en Bioquímica y Biología Molecular). Para ello se proponen una serie de experimentos ligados con el orden temático de la mayoría de las lecciones del programa teórico. En la asignatura Prácticas Integradas de Métodos, de tipo exclusivamente práctico, el programa no es estático ya que la aparición de nuevas técnicas, métodos o procedimientos experimentales pueden aconsejar la incorporación de estas innovaciones al programa.

Las clases prácticas consistirán en 10 sesiones con un total de 42 horas que se realizarán en dos bloques (de cinco sesiones cada uno). El primero de ellos, consistente en 5 sesiones a realizar en distintas semanas (de forma no intensiva), incluye experimentos de espectrofotometría, espectrofluorimetría y diversas de sus aplicaciones. Las experiencias a realizar en este primer bloque se corresponden con los contenidos teóricos explicados en el primer cuatrimestre en la asignatura de teoría, Métodos en Bioquímica y Biología Molecular. El segundo bloque (5 sesiones más) a realizar de forma intensiva en una semana, incluye experimentos y técnicas separativas y de purificación, cuyos fundamentos teóricos se explica en el segundo cuatrimestre en la asignatura de teoría, Métodos en Bioquímica y Biología Molecular.

Las sesiones prácticas incluirán una breve introducción de los fundamentos del método o grupo de métodos que se emplearán, su manejo experimental y de cómo procesar los datos obtenidos. Cada práctica puede abarcar una técnica o un grupo de técnicas afines y varias de sus aplicaciones. Los experimentos a realizar son sencillos, de fácil realización de modo que resulten pedagógicos y puedan ser interpretados por los estudiantes tras procesado de resultados.

La asistencia a todas las sesiones de laboratorio es obligatoria e indispensable para que la asignatura sea evaluada.

CONOCIMIENTOS PREVIOS

Relación con otras asignaturas de la misma titulación

No se han especificado restricciones de matrícula con otras asignaturas del plan de estudios.

Otros tipos de requisitos

Para cursar esta asignatura se necesita haber cursado o estar cursando la asignatura de Métodos en Bioquímica y Biología Molecular

COMPETENCIAS (RD 1393/2007) // RESULTADOS DEL APRENDIZAJE (RD 822/2021)

1102 - Grado en Biotecnología

- Diseñar protocolos de separación, purificación y caracterización de moléculas biológicas.
- Manejar adecuadamente los equipos y el material propio de un laboratorio de bioquímica y biología molecular.

RESULTADOS DE APRENDIZAJE (RD 1393/2007) // SIN CONTENIDO (RD 822/2021)

- Manejar adecuadamente los equipos y el material básico propio de un laboratorio de bioquímica y biología molecular
- Comprender y seguir correctamente protocolos de separación, caracterización y análisis de moléculas biológicas.
- Interpretar y discutir los resultados experimentales y elaborar correctamente una memoria técnica

sobre ellos.

-
- Capacidad de preparar, diseñar, realizar, interpretar y discutir experimentos en equipo con otros alumnos.
- Capacidad de comunicación con el resto de estudiantes en la discusión de la metodología utilizada en la realización de las experiencias.

DESCRIPCIÓN DE CONTENIDOS

1. Part 1. Métodos espectroscópicos: Espectroscopía de absorción y fluorescencia.

Realización de cinco prácticas a desarrollar en cinco sesiones (de 4 horas), en distintas semanas (no intensivo)

Práctica 1: Colorimetría y espectrofotometría. Medidas de absorbancia de cromóforos en disolución. Cálculo del coeficiente de extinción. Ley de Lambert-Beer. Limitaciones de la ley. Cálculo de concentraciones de solutos en mezclas.

Práctica 2: Medida de actividades enzimáticas por espectrofotometría. Determinación de la actividad específica y parámetros cinéticos de enzimas.

Práctica 3: Análisis enzimático de metabolitos en alimentos empleando métodos colorimétricos. Determinación enzimática y espectrofotométrica de la concentración de etanol.

Práctica 4: Interacción proteína-ligando seguida por fluorimetría. Manejo del espectrofluorímetro. Espectros de excitación y emisión. Utilización del ANS como fluoróforo sensor de polaridad. Análisis de la interacción proteína ligando.

Práctica 5: Determinación espectrofluorimétrica de Ca2+ y pH en disoluciones. Análisis de la variación de los espectros de excitación los fluoróforos QUIN2 y 5-carboxi4,5-dimetilfluoresceína con la concentración de Ca2+ y con el pH respectivamente. Ca2+ y pH en disoluciones problema.

2. Parte 2. Métodos de separación y purificación de biomoléculas.

Realización de una práctica a desarrollar a lo largo de cinco sesiones (4 de 4.5 horas y 1 de 4 horas, intensivo 1 semana), utilizando métodos cromatográficos, electroforéticos y de centrifugación básica. Aplicación a la purificación, caracterización y análisis de la proteína RuBisCO.

Práctica 6: estudio de la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa de hojas de naranjo. Técnicas separativas. Extracción y purificación de una proteína (RuBisCO) utilizando precipitación diferencial, centrifugación, diálisis, cromatografía y electroforesis en gel de poliacrilamida. Análisis del rendimiento y factor de purificación.

VOLUMEN DE TRABAJO

ACTIVIDAD	Horas	% Presencial
Prácticas en laboratorio	42,00	100
Prácticas en aula	3,00	100
Estudio y trabajo autónomo	12,00	0
Preparación de actividades de evaluación	18,00	0
Preparación de clases prácticas y de problemas	15,00	0
TOTAL	**90,00**	

METODOLOGÍA DOCENTE

Previamente a las clases prácticas los estudiantes dispondrán de información bibliográfica y de material. El profesor proporcionará al alumno con antelación un cuadernillo/guía que contendrá no sólo los protocolos a seguir sino también referencias bibliográficas y unas cuestiones que el alumno deberá resolver (con ayuda de la bibliografía) antes de realizar las prácticas. Ello asegurará que los estudiantes poseen unos conocimientos básicos para la realización y aprovechamiento de las tareas prácticas.

Las sesiones prácticas se plantearán de forma que los estudiantes participen y se hagan cargo de, si no todo, la mayor parte del trabajo necesario para la realización de los experimentos: desde el diseño de la experiencia, el desarrollo de la práctica, la obtención de datos y el proceso de elaboración e interpretación de los resultados para proporcionar finalmente unas conclusiones del experimento. Todo ello en el laboratorio docente y bajo la supervisión del profesor y trabajando en equipo con los compañeros. Al finalizar las prácticas (tras cada parte), con los resultados obtenidos y las conclusiones extraídas los alumnos elaborarán y presentarán una memoria técnica para poner de manifiesto también su capacidad de formalizar y comunicar datos científicos.

EVALUACIÓN

Se realizará una prueba escrita (examen) sobre los contenidos y actividades realizadas durante las sesiones prácticas de las dos partes de la asignatura: Parte I (Prácticas 1-5) y Parte II (Práctica 6). Cada parte tendrá un valor de un 40 % de la calificación final. Será necesario obtener una puntuación como mínimo de 1,8/4 (o de 4,5/10) en cada una de las partes y un 5 en total para aprobar la asignatura. Las notas compensables se guardarán sólo durante el curso académico.El 20 % restante de la calificación provendrá de la valoración de la participación del estudiante y de las respuestas a las cuestiones planteadas durante y después de la realización de las prácticas, mediante la evaluación de las contestaciones a los cuestionarios presentados al finalizar las sesiones prácticas de las dos partes.

REFERENCIAS

Básicas

- Primera parte (prácticas 1-5)

-Bergmeyer, U. (1984) "Methods in enzymatic analysis" 3rd ed. Verlag Chemie
-Cornell, N.W. y Veech, R. (1983) "Enzymatic measurement of ethanol or NAD in acid extracts of biological samples". Anal. Biochem., 132, 418-423
-Cuatrecasas, P., Fuchs, S. y Anfinsen, C.B. (1967) "Catalytic properties and specificity of the extracellular nuclease of Staphylococcus aureus". J. Biol. Chem. 242, 1541-1547.
-Díaz, P,. y Daban, J.-R. (1986) "Enzymatic probes for histone-DNA complexes: micrococcal nuclease activity under conditions useful for the investigation of chromatin structure". J. Biochem. Biophys. Meth., 13, 57-59.
-Instructions for the analysis using test-combinations de Boehringer Mannheim Biochímica (1995) "Methods of enzymatic bioanalysis and food analysis". Boehringer Mannheim Biochemicals
-Moller, M. y Denicola, A. (2002) Study of protein-ligand binding by fluorescence Biochem. Mol. Biol. Edu. 30, 309-312.
-Sugihara, A. et al. (1986) Biochemistry 25, 3430
-Stryer, L. (1968) "Fluorescence spectroscopy of proteins" Science, 162, 526-533
-Walker, J.R.L. (1992) "Spectrophotometric determination of enzyme activity: alcohol dehydrogenase (ADH)". Biochem. Educ., 20, 42-43.

- Segunda parte (práctica 6)

-Andrews, T.J. y Lorimer, G.H. en The Biochemistry of Plants Vol. 10, 132-211. (Hatch, M.D. y Boardman, N.K. eds.) Acad. Press, 1987.
-Bradford, M. (1976). Anal. Biochem. 72, 248-254.
-Ellis, R.J. (1979). Trends Biochem. Sci. 4, 241-244.
-García-Martínez, J.L. y Moreno, J. (1986). Physiol. Plant. 66, 377-383.
-Hames, B.D. y Rickwood, D. Gel electrophoresis of proteins. A practical approach. IRL Press, 1981
-Keys, A.J. y Parry, M.A. en Methods in Plant Biochemistry Vol. 3, 1-14. (Dey, P.M. y Harborne, J.B. eds.) Academic Press. 1990.
-Lilley, R.McC., Walker, D.A. (1974). BBA, 358, 226-229.
-Peñarrubia, L., Moreno, J., Carrasco, P. (1988). Biochem. Educ., 16, 234-236.
-Saleemuddin et al. (1980). Anal. Biochem. 105, 202-205
-Schneider, G., Lindqvist, Y. y Brändén, C.I. (1992). Rubisco: structure and mechanism. Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 21, 119-143.