

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

Codi	33177
Nom	Pràctiques integrades de mètodes
Cicle	Grau
Crèdits ECTS	4.5
Curs acadèmic	2019 - 2020

Titulació/titulacions

Titulació	Centre	Curs	Període
1102 - Grau de Biotecnologia	Facultat de Ciències Biològiques	2	Segon quadrimestre

Matèries

Titulació	Matèria	Caràcter
1102 - Grau de Biotecnologia	85 - Metodologia Bioquímica	Obligatòria

Coordinació

Nom	Departament
PEÑARRUBIA BLASCO, DOLORES	30 - Bioquímica i Biologia Molecular
SENDRA PEREZ, RAMON	30 - Bioquímica i Biologia Molecular

RESUM

El desenvolupament dels mètodes d'anàlisi en bioquímica i biologia molecular ha tingut, i continuarà tenint, un gran impacte en el desenvolupament de la biotecnologia. Aquesta assignatura pretén que l'alumne conega, entre en contacte i arribi a familiaritzar-se amb aquelles les tècniques experimentals de bioquímica i biologia molecular més comunes en l'actualitat. S'intentarà a més que l'estudiant desenvolupe habilitats pràctiques específiques indispensables en una disciplina científica empírica. L'assignatura introdueix als estudiants en el maneig d'instrumental bàsic del laboratori de bioquímica i biologia molecular, en l'obtenció de paràmetres físic-químics de biomolècules i en la interpretació d'aquelles dades resultants.

L'objectiu del programa és complementar els coneixements sobre les tècniques i metodologia emprades en laboratoris de bioquímica, explicades en l'assignatura teòrica (Mètodes en Bioquímica i Biologia Molecular). Per a açò es proposen una sèrie d'experiments lligats amb l'ordre temàtic de la majoria de les lliçons del programa teòric. En l'assignatura Pràctiques Integrades de Mètodes, de tipus exclusivament pràctic, el programa no és estàtic ja que l'aparició de noves tècniques, mètodes o procediments experimentals poden aconsellar la incorporació d'aquestes innovacions al programa.

Les classes pràctiques consistiran en 10 sessions amb un total de 42 hores que es realitzaran en dos blocs (de cinc sessions cadascun). El primer d'ells, consistent en 5 sessions a realitzar en diferents setmanes (de



forma no intensiva), inclou experiments d'espectrofotometria, *espectrofluorimetria i diverses de les seues aplicacions. Les experiències a realitzar en aquest primer bloc es corresponen amb els continguts teòrics explicats en el primer quadrimestre en l'assignatura de teoria, Mètodes en Bioquímica i Biologia Molecular. El segon bloc (5 sessions més) a realitzar de forma intensiva en una setmana, inclou experiments i tècniques *separatives i de purificació, els fonaments teòrics de la qual s'explica en el segon quadrimestre en l'assignatura de teoria, Mètodes en Bioquímica i Biologia Molecular.

Les sessions pràctiques inclouran una breu introducció dels fonaments del mètode o grup de mètodes que s'empraran, el seu maneig experimental i de com processar les dades obtingudes. Cada pràctica pot abastar una tècnica o un grup de tècniques afins i diverses de les seues aplicacions. Els experiments a realitzar són senzills, de fàcil realització de manera que resulten pedagògics i pugen ser interpretats pels estudiants després de processament de resultats.

L'assistència a totes les sessions de laboratori és obligatòria i indispensable perquè l'assignatura siga avaluada.

CONEXEMENTS 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

Per cursar aquesta assignatura es necessita haver cursat o estar cursant l'assignatura de Mètodes en Bioquímica i Biologia Molecular

COMPETÈNCIES

1102 - Grau de Biotecnologia

- Dissenyar protocols de separació, purificació i caracterització de molècules biològiques.
- Manejar adequadament els equips i el material propi d'un laboratori de bioquímica i biologia molecular.

RESULTATS DE L'APRENTATGE

- Manejar adequadament els equips i el material bàsic propi d'un laboratori de bioquímica i biologia molecular
- Comprendre i seguir correctament protocols de separació, caracterització i anàlisi de molècules biològiques.
- Interpretar i discutir els resultats experimentals i elaborar correctament una memòria tècnica sobre ells.
- Capacitat de preparar, dissenyar, realitzar, interpretar i discutir experiments en equip amb altres alumnes.
- Capacitat de comunicació amb la resta d'estudiants en la discussió de la metodologia utilitzada en la realització de les experiències.



DESCRIPCIÓ DE CONTINGUTS

1. Part 1. Mètodes espectroscòpics: Espectroscopia d'absorció i fluorescència.

Realització de cinc pràctiques a desenvolupar en cinc sessions (de 4 hores), en diferents setmanes (no intensiu)

Pràctica 1: Colorimetria i espectrofotometria. Mesures d'absorbància de cromòfors en dissolució. Càlcul del coeficient d'extinció. Llei de Lambert-Beer. Limitacions de la llei. Càlcul de concentracions de soluts en barreges.

Pràctica 2: Mesura d'activitats enzimàtiques per espectrofotometria. Determinació de l'activitat específica i paràmetres cinètics d'enzims.

Pràctica 3: Anàlisi enzimàtica de metabòlits en aliments emprant mètodes colorimètrics. Determinació enzimàtica i espectrofotomètrica de la concentració d'etanol.

Pràctica 4: Interacció proteïna-ligant seguida per fluorimetria. Maneig del espectrofluorímetre. Espectres d'excitació i emissió. Utilització del ANS com fluoròfor sensor de polaritat. Anàlisi de la interacció proteïnalligant.

Pràctica 5: Determinació espectrofluorimètrica de Ca^{2+} i pH en dissolucions. Anàlisi de la variació dels espectres d'excitació dels fluoròforos QUIN2 i 5-carboxi4,5-dimetilfluoresceïna amb la concentració de Ca^{2+} i amb el pH, respectivament. Ca^{2+} i pH en dissolucions problema.

2. Part 2. Mètodes de separació i purificació de biomolècules.

Realització d'una pràctica a desenvolupar al llarg de cinc sessions (4 de 4.5 hores i 1 de 4 hores, intensiu 1 setmana), utilitzant mètodes cromatogràfics, electroforètics i de centrifugació bàsica. Aplicació a la purificació, caracterització i anàlisi de la proteïna RuBisCO.

Pràctica 6: estudi de la ribulosa-1,5-bisfosfat carboxilasa-oxigenasa de fulles de taronger. Tècniques separatives. Extracció i purificació d'una proteïna (RuBisCO) utilitzant precipitació diferencial, centrifugació, diàlisi, cromatografia i electroforesi en gel de poliacrilamida. Anàlisi del rendiment i factor de purificació.

**VOLUM DE TREBALL**

ACTIVITAT	Hores	% Presencial
Pràctiques en laboratori	42,00	100
Pràctiques en aula	3,00	100
Estudi i treball autònom	12,00	0
Preparació d'activitats d'avaluació	18,00	0
Preparació de classes pràctiques i de problemes	15,00	0
TOTAL	90,00	

METODOLOGIA DOCENT

Prèviament a les classes pràctiques els estudiants disposaran d'informació bibliogràfica i de material. El professor proporcionarà a l'alumne amb antelació un quadern/guia que contindrà no solament els protocols a seguir sinó també referències bibliogràfiques i unes qüestions que l'alumne haurà de resoldre (amb ajuda de la bibliografia) abans de realitzar les pràctiques. Açò assegurarà que els estudiants posseeixen uns coneixements bàsics per a la realització i aprofitament de les tasques pràctiques.

Les sessions pràctiques es plantejaran de manera que els estudiants participen i es facen càrrec de, si no tot, la major part del treball necessari per a la realització dels experiments: des del disseny de l'experiència, el desenvolupament de la pràctica, l'obtenció de dades i el procés d'elaboració i interpretació dels resultats per a proporcionar finalment unes conclusions de l'experiment. Tot açò en el laboratori docent i sota la supervisió del professor i treballant en equip amb els companys. En finalitzar les pràctiques (després de cada part), amb els resultats obtinguts i les conclusions extretes els alumnes elaboraran i presentaran una memòria tècnica per a posar de manifest també la seua capacitat de formalitzar i comunicar dades científiques.

AVALUACIÓ

Es realitzarà una prova escrita (examen) sobre els continguts i activitats realitzades durant les sessions pràctiques de les dues parts de l'assignatura: Part I (Pràctiques 1-5) i Part II (Pràctica 6). Cada part tindrà un valor d'un 40% de la qualificació final. Serà necessari obtenir una puntuació com a mínim de 1,8 / 4 (o de 4,5 / 10) en cadascuna de les parts i un 5 en total per aprovar l'assignatura. Les notes compensables es guardaran només durant el curs acadèmic. El 20% restant de la qualificació provindrà de la valoració de la participació de l'estudiant i de les respostes a les qüestions plantejades durant i després de la realització de les pràctiques, mitjançant l'avaluació de les contestacions als qüestionaris presentats al finalitzar les sessions pràctiques de les dues parts.



REFERÈNCIES

Bàsiques

- 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 Bioquímica (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.

ADDENDA COVID-19



Aquesta addenda només s'activarà si la situació sanitària ho requereix i previ acord del Consell de Govern

1. Continguts / Contenidos

Se mantienen los contenidos inicialmente recogidos en la guía docente.

2. Volum de treball i planificació temporal de la docència

2. Volumen de trabajo y planificación temporal de la docencia

Se mantiene el volumen de trabajo de las distintas actividades que suman las horas de dedicación en créditos ECTS marcadas en la guía docente original.

La primera parte de las prácticas (Métodos espectroscópicos: espectroscopía de absorción y fluorescencia) se ha desarrollado de la forma presencial habitual.

La falta de presencialidad ha afectado a la segunda parte de la asignatura (Métodos de purificación y separación de biomoléculas). Las prácticas de laboratorio de esta parte se han sustituido por powerpoints locutados que explican la realización de las diferentes técnicas utilizadas y los resultados obtenidos, y que conllevan el trabajo autónomo y guiado del estudiante con el objeto de adquirir las competencias previstas en las sesiones de laboratorio.

La distribución de los materiales de aprendizaje se ha realizado en la primera semana, coincidiendo con la docencia del primer grupo de prácticas. La planificación, así como la resolución de los cuestionarios, se han unificado, ampliándose al periodo de clases de todos los subgrupos de prácticas con el objetivo de facilitar a los alumnos la distribución del trabajo de autoaprendizaje. Se han dividido las actividades en dos periodos con el objetivo de orientar temporalmente y facilitar la distribución del volumen de trabajo entre profesores y alumnos.

3. Metodología docente

3. Metodología docente

Las clases prácticas presenciales de laboratorio de la segunda parte de la asignatura (Métodos de purificación y separación de biomoléculas) se han sustituido por: videoconferencias y presentaciones en powerpoints locutados y con múltiples videos enlazados de cada técnica experimental, en los que se



explican los procedimientos que se hubieran desarrollado en el laboratorio, con ejemplos de resultados reales obtenidos en otros cursos académicos, que el estudiante debe interpretar y emplear para la realización de los cálculos tal y como hubiera hecho durante las sesiones presenciales, lo que permite cubrir en gran medida los objetivos docentes planteados en estas prácticas de laboratorio.

Para tutorías y dudas se han habilitado Foros asincrónicos en Aula Virtual y consultas directas por correo electrónico.

-

4. Avaluació

4. Evaluación

Se ha modificado la distribución de la puntuación quedando de la siguiente manera:

Examen en Aula Virtual de tipo cuestiones con tiempo acotado: 7 puntos (4 puntos primera parte y 3 puntos segunda parte).

Cuestionarios y participación en evaluación continua: 3 puntos (1 punto primera parte y 2 puntos segunda parte).

El examen consistirá en una prueba de cuestiones vía telemática a través de Aula Virtual, empleando alguna de las herramientas disponibles o que la UV nos facilite para evaluar al estudiantado de forma no presencial.

Si por causas técnicas, algún estudiante no pudiera realizar el examen online, deberá comunicarlo al profesor de su grupo de prácticas por correo electrónico con la suficiente antelación. Tanto en este caso como si se da la situación de que durante la realización del examen no se pudiera completar el mismo por fallos técnicos, se realizará una prueba alternativa de tipo ORAL.

Dado lo extraordinario de la situación y la generalización de los exámenes online, apelamos a la responsabilidad y a la ética de los estudiantes durante su realización. Si se detectara algún intento de copia u otro tipo de fraude, se adoptarán con rigor las medidas disciplinarias aplicables en estos casos.

5. Bibliografia

No hay cambios ya que el material y bibliografía disponible es suficiente para el

5. Bibliografía seguimiento de la asignatura

