

MÓDULO	MATERIA	CURSO	SEMESTRE	CRÉDITOS	TIPO
Bioquímica y Biología Molecular	Bioquímica Experimental I	3º	5º	6	Obligatoria
<b>PROFESORES</b>			<b>DIRECCIÓN COMPLETA DE CONTACTO PARA TUTORÍAS</b>		
Dr. Rogelio J. Palomino Morales Dra. Eva E. Rufino Palomares Prfa. Isabel Fernández Coira			Dpto. Bioquímica y Biología Molecular I, Edif. Biología (4ª planta), Facultad de Ciencias. Rogelio Palomino: despachonº11, <a href="mailto:rpm@ugr.es">rpm@ugr.es</a> Eva Rufino: despacho nº 13, <a href="mailto:evaevae@ugr.es">evaevae@ugr.es</a> Isabel Fernández Coira nº 10 <a href="mailto:isabelfernandez@correo.ugr.es">isabelfernandez@correo.ugr.es</a>		
			<b>HORARIO DE TUTORÍAS</b>		
			Rogelio Palomino: M 16-19 h y X 13-14 h y 16-18h Eva Rufino: L. y V. 11-14 h Isabel Fernández L 16-18 h		
<b>GRADO EN EL QUE SE IMPARTE</b>			<b>OTROS GRADOS A LOS QUE SE PODRÍA OFERTAR</b>		
Grado en Bioquímica					
<b>PRERREQUISITOS Y/O RECOMENDACIONES</b>					
Tener cursadas las asignaturas: Química Orgánica; Química Física; Fundamentos de Bioquímica; Métodos instrumentales cuantitativos.					
<b>BREVE DESCRIPCIÓN DE CONTENIDOS</b>					
-Análisis experimental y cuantificación de biomoléculas. -Técnicas físicas para el estudio de la estructura y función de macromoléculas biológicas. -Purificación y caracterización de proteínas. Técnicas inmunoquímicas de detección y caracterización de proteínas. -Cinética enzimática.					



## COMPETENCIAS GENERALES Y ESPECÍFICAS

### Básicas/Generales:

- CB2.- Que los estudiantes sepan aplicar sus conocimientos a su trabajo o vocación de una forma profesional y posean las competencias que suelen demostrarse por medio de la elaboración y defensa de argumentos y la resolución de problemas dentro de su área de estudio
- CB3.- Que los estudiantes tengan la capacidad de reunir e interpretar datos relevantes (normalmente dentro de su área de estudio) para emitir juicios que incluyan una reflexión sobre temas relevantes de índole social, científica o ética
- CB5.- Que los estudiantes hayan desarrollado aquellas habilidades de aprendizaje necesarias para emprender estudios posteriores con un alto grado de autonomía
- CG2.-** Saber aplicar los conocimientos en Bioquímica y Biología Molecular al mundo profesional, especialmente en las áreas de investigación y docencia, y de actividades biosanitarias, incluyendo la capacidad de resolución de cuestiones y problemas en el ámbito de las Biociencias Moleculares utilizando el método científico.
- CG3.-** Adquirir la capacidad de reunir e interpretar datos relevantes dentro del área de la Bioquímica y Biología Molecular, así como de extraer conclusiones y reflexionar críticamente sobre las mismas en distintos temas relevantes en el ámbito de las Biociencias Moleculares.
- CG5.-** Haber desarrollado las habilidades de aprendizaje necesarias para emprender estudios posteriores de especialización con un alto grado de autonomía, incluyendo la capacidad de asimilación de las distintas innovaciones científicas y tecnológicas que se vayan produciendo en el ámbito de las Biociencias Moleculares.

### Transversales:

- CT2.-**Sabertrabajaren equipo de forma colaborativa y con responsabilidad compartida.
- CT4.-**Tenercapacidadde aprendizaje y trabajo autónomo.
- CT5-** Saber aplicar los principios del método científico.

### Específicas:

- CE16.-** Conocer los principios y aplicaciones de los principales métodos experimentales e instrumentación utilizados en Bioquímica y Biología Molecular, con énfasis en las técnicas de aislamiento y caracterización de macromoléculas biológicas.
- CE17.-** Conocer los principales métodos para el ensayo de la actividad biológica de los componentes celulares, en especial de los enzimas, tanto in vitro como in vivo.
- CE21.-** Poseer las habilidades "cuantitativas" para el trabajo en el laboratorio bioquímico, incluyendo la capacidad de preparar reactivos para experimentos de manera exacta y reproducible.
- CE22-** Saber trabajar de forma adecuada en un laboratorio bioquímico con material biológico y químico, incluyendo seguridad, manipulación, eliminación de residuos biológicos y químicos, y registro anotado de actividades.
- CE23.-** Saber aplicar protocolos experimentales de laboratorio dentro del área de la Bioquímica y Biología Molecular.
- CE27.-** Comprender los aspectos básicos del diseño de experimentos en el área de la Bioquímica y Biología Molecular, entendiendo las limitaciones de las aproximaciones experimentales.
- CE28.-** Capacidad para transmitir información dentro del área de la Bioquímica y Biología Molecular.



incluyendo la elaboración, redacción y presentación oral de un informe científico.

## OBJETIVOS

El alumno sabrá/comprenderá:

1. Adquirir conocimientos básicos sobre las técnicas más comunes de purificación y análisis de macromoléculas biológicas de interés bioquímico.
2. Entender los principios físico-químicos de estas técnicas.
3. Manipular los aparatos relacionados con las técnicas de purificación y análisis de macromoléculas biológicas.
4. Diseñar protocolos de experimentación para abordar una investigación.
5. Presentar los resultados de una investigación

## TEMARIO DETALLADO DE LA ASIGNATURA

TEMARIO TEÓRICO: (0,36 ECTS/9h)

1. Introducción a la asignatura. Entrega de material para el diseño de un protocolo experimental
2. Técnicas bioquímicas de extracción y caracterización de lípidos
3. Técnicas de purificación de proteínas. Principios básicos. Estrategias de purificación
4. Técnicas inmunológicas de caracterización y análisis de expresión de proteínas
5. Caracterización cinética de enzimas
6. Aislamiento y caracterización parcial de proteínas. Realización de tabla de purificación
7. Tratamiento y presentación de resultados

TEMARIO PRÁCTICO:

Prácticas de Laboratorio (1,72 ECTS/43h)

- 1) Extracción y caracterización de lípidos neutros
- 2) Extracción y caracterización de fosfolípidos
- 3) Extracción y caracterización de colesterol y diacilglicerol
- 4) Caracterización cinética de un enzima: determinación de la  $K_m$  y  $V_{max}$
- 5) Fraccionamiento proteico por sulfato amónico
- 6) Purificación del enzima Glutathion-S transferasa (GST) mediante cromatografía de afinidad
- 7) Determinación de la concentración de proteínas y la actividad enzimática GST
- 8) Análisis de la cantidad específica de la proteína en cada fracción mediante SDS-PAGE
- 9) Análisis de la cantidad de proteína específica en cada fracción mediante *immunoblotting*

## BIBLIOGRAFÍA

Fundamental:

- Methods in enzymology. New York, Academic Press. U.S.A  
(<http://www.sciencedirect.com/science/bookseries/00766879>)
- Hamilton R.J. & Hamilton S. (1992). Lipid Analysis: a practical approach. Oxford University Press, USA.
- Ausubel, F.M., Brent, R., Kingston, R. (Editor), David Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A. y



Struhl, K. 2002. Short protocols in molecular biology : a compendium of methods from current protocols in molecular biology. Vol 2 (5ª Ed.). Wiley Ed. U.S.A.

- Ausubel, F.M., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G. y Struhl, K. (1994-2011). - Current protocols in molecular biology, Vols. 1, 2 y 3. Wiley Ed. U.S.A.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. y Maniatis, T. (2001). Molecular cloning. a laboratory manual, Vols. 1, 2 y 3 (2ª Ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press, U.S.A.

#### Complementaria:

- Protein purification Handbook. 1999. Amherstham Pharmacia Biotech AB. Uppsala, Sweden. Code number 18-1132-29  
(<http://chemgroups.northwestern.edu/ohalloran/grouponly/proteinpurification.pdf>)
- Strategies for Protein Purification Handbook . 2012. GE Healthcare Bio-Sciences AB. Uppsala, Sweden. Code number 28-9833-31 AA  
([http://www.gelifesciences.com/gehcls\\_images/GELS/Related%20Content/Files/133616876299/litdoc28983331\\_20120505002036.pdf](http://www.gelifesciences.com/gehcls_images/GELS/Related%20Content/Files/133616876299/litdoc28983331_20120505002036.pdf))
- Rubinson, K.A. & Rubinson, J.F. (2001) Análisis instrumental. Pearson educación, S.A. España.
- Parker, F. & Peterson Quantitative analysis of phospholipids and phospholipid fatty acids from silica gel thin-layer chromatograms. ( ) Journal of lipids research. 19656: 455-460
- Bligh, E.G. and Dyer, W.J. A rapid method for total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 1959. 37:911-917
- FOLCH J, LEES M, SLOANE STANLEY GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J Biol Chem. 1957 226(1):497-509.

#### ENLACES RECOMENDADOS

<http://www.gelifesciences.com/webapp/wcs/stores/servlet/Home/es/GELifeSciences-es/>  
<http://www.bio-rad.com/>  
<http://www.promega.com>  
<http://www.invitrogen.com>  
<http://www.sigmaaldrich.com>  
<http://www.expasy.org/>  
<http://www.molecularstation.com/>  
[www.cyberlipid.org/extract/extra0002.htm](http://www.cyberlipid.org/extract/extra0002.htm)  
<http://www.encorbio.com/protocols/AM-SO4.htm>  
<http://www.gmi-inc.com/archivedpages/Rotor%20RCF%20Calculator.htm>

#### METODOLOGÍA DOCENTE

*Clases de teoría y problemas:* Lecciones magistrales sobre los principios y/o pautas a tener en cuenta para las técnicas a desarrollar. Guía de los experimentos a realizar en el laboratorio (objetivos, metodología, resultados previsibles, etc.).



Competencias que se desarrollan:

- Conocer los principios y aplicaciones de los principales métodos experimentales e instrumentación utilizados en Bioquímica y Biología Molecular, con énfasis en las técnicas de aislamiento y caracterización de macromoléculas biológicas (CE16).
- Conocer los principales métodos para el ensayo de la actividad biológica de los componentes celulares, en especial de los enzimas, tanto in vitro como in vivo (CE17).
- Comprender los aspectos básicos del diseño de experimentos en el área de la Bioquímica y Biología Molecular, entendiendo las limitaciones de las aproximaciones experimentales. (CE27)
- Capacidad para transmitir información dentro del área de la Bioquímica y Biología Molecular, incluyendo la elaboración, redacción y presentación oral de un informe científico (CE28).

*Clases prácticas de laboratorio:* donde se llevarán a cabo los experimentos diseñados. En la mayoría de los casos y previo al desarrollo de la práctica, el estudiante habrá trabajado (individualmente o en grupo) el diseño del experimento. Una vez finalizado el trabajo experimental, se discuten los resultados obtenidos en el laboratorio.

Competencias que se desarrollan

- Saber trabajar en equipo de forma colaborativa y con responsabilidad compartida (CT2).
- Tener capacidad de aprendizaje y trabajo autónomo (CT4).
- Saber aplicar los principios del método científico(CT5).
- Poseer las habilidades "cuantitativas" para el trabajo en el laboratorio bioquímico, incluyendo la capacidad de preparar reactivos para experimentos de manera exacta y reproducible (CE21).
- Saber trabajar de forma adecuada en un laboratorio bioquímico con material biológico y químico, incluyendo seguridad, manipulación, eliminación de residuos biológicos y químicos, y registro anotado de actividades (CE22).
- Saber aplicar protocolos experimentales de laboratorio dentro del área de la Bioquímica y Biología Molecular (CE23).

#### PROGRAMA DE ACTIVIDADES

SEMESTRE 5º	Tema	ACTIVIDADES PRESENCIALES				ACTIVIDADES NO PRESENCIALES	
		Teoría (horas)	Prácticas (horas)	Exámenes (horas)	Contenidos	Estudio de teoría y problemas (horas)	Preparación de trabajos (horas)
SEMANA 1 (19- 23sep)	1,2	2			Introducción. Entrega de material para el diseño de un protocolo experimental Técnicas bioquímicas de extracción y caracterización de lípidos.	1	8
SEMANA 2	3,4, 5	4			Técnicas de purificación de proteínas. Principios básicos.	1	8



(26-30sept)					Estrategias de purificación Técnicas inmunológicas de caracterización y análisis de la expresión de proteínas. Caracterización cinética de enzimas Aislamiento y caracterización parcial de proteínas		
SEMANA 3 (3-7 oct)	PI(G I,GII Y GII)				Puesta en común de protocolos y guía para el desarrollo del experimento en el laboratorio	1	8
SEMANA 4 (10-14oct)	P1-7 (G1)		28/G-I		Extracción y caracterización de lípidos neutros, fosfolípidos, colesterol y diaciglicerol. -Caracterización cinética de una enzima: determinación de la Km y Vmax -Fraccionamiento proteico por precipitación con sulfato amónico -Purificación de GST mediante cromatografía de afinidad. -Determinación de concentración de proteínas y actividad enzimática GST.	1	8
SEMANA 5 (17-21oct)	P8-9 (G1) P1-3 (GII )		10/G-I 20/GII		- Análisis de la cantidad de proteína en cada fracción mediante SDS-PAGE -Análisis de la cantidad específica de la proteína en cada fracción mediante <i>immunoblotting</i> -Extracción y caracterización de lípidos neutros, fosfolípidos, colesterol y diaciglicerol. -Caracterización cinética de una enzima: determinación de la Km y Vmax -Fraccionamiento proteico por precipitación con sulfato amónico - Determinación de concentración de proteínas y actividad enzimática GST	1	8
SEMANA 6 (24-28oct)	P5-9 (GII ) P1-3(GI II)		18/GII 13/GIII 1,5/G-I		-Purificación de GST mediante cromatografía de afinidad. -Análisis de la cantidad de proteína en cada fracción mediante SDS-PAGE. -Análisis de la cantidad específica de la proteína en cada fracción	3,5	4



					<p>mediante <i>immunoblotting</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Extracción y caracterización de lípidos neutros, fosfolípidos, colesterol y diaciglicerol.</li> <li>-Caracterización cinética de una enzima: determinación de la Km y Vmax</li> <li>-Fraccionamiento proteico por precipitación con sulfato amónico</li> <li>-Prueba prácticas grupo I (24 octubre)</li> </ul>		
SEMANA 7 (31 oct-4 nov)	P4-9 (GII 1)		25/GIII	1,5/G-II	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Purificación de GST mediante cromatografía de afinidad.</li> <li>-Determinación de concentración de proteínas y actividad enzimática GST.</li> <li>-Análisis de la cantidad de proteína en cada fracción mediante SDS-PAGE.</li> <li>-Análisis de la cantidad específica de la proteína en cada fracción mediante <i>immunoblotting</i></li> <li>-Prueba prácticas grupo II (2 noviembre)</li> </ul>	3,5	4
SEMANA 8 (7-11 nov)		1,5			Realización de tablas de purificación. Tratamiento y presentación de resultados	3,5 5,5	4
SEMANA 9 (14-18 nov)		1,5		1,5/G-III	-Prueba prácticas grupo III (16 noviembre)	3,5	4
SEMANA 10 (21 nov-25 nov)							
SEMANA 11 (28 nov-1 dic)				2	Exposición de resultados (pósters) 29 Nov	5,5	
SEMANA 12 (12-16 dic)							
SEMANA 13							
SEMANA 14							



SEMANA 15							
SEMANA 16 (25 enero)					Examen final: temario de teoría y prácticas (25 enero)	5,5	
12 Julio					Examen extraordinario (12 julio)		
<b>Total hs</b>		<b>9</b>	<b>43</b>	<b>8</b>		<b>30</b>	<b>60</b>

## EVALUACIÓN

### •Evaluación ordinaria: (% de la calificación final) (por curso):

#### •Examen temario teoría y prácticas: 65%.

Se realizará una prueba escrita (problema, preguntas cortas y/o largas) del programa teórico-práctico de la asignatura, donde el alumnado tendrá que mostrar sus conocimientos y las competencias adquiridas. La superación del examen se logrará con un conocimiento uniforme y equilibrado de la materia.

#### •Resolución de problemas y casos prácticos: 5%.

Se evaluará trabajo autónomo realizado por el estudiante mediante la calificación de informes de resultados y casos prácticos durante el transcurso de la asignatura.

#### •Asistencia, actitud en el laboratorio y realización de los cuadernos de prácticas: 30%.

En las prácticas de laboratorio se evaluarán conocimientos, participación activa, actitud crítica, capacidad de comunicación, claridad de la presentación, bibliografía utilizada, etc. Asimismo, mediante la valoración de la asistencia, participación y el trabajo realizado en la elaboración de los cuadernos de prácticas.

### •Evaluación extraordinaria:

Aquellos estudiantes que no hayan superado la asignatura por curso (evaluación ordinaria) podrán ser evaluados mediante un examen extraordinario del temario. Téngase en cuenta que la nota de este examen se multiplicará por 0,65. El 35% restante corresponde a las actividades que deben haber sido evaluadas durante el curso (asistencia, actitud en el laboratorio y realización de los cuadernos de prácticas)

### Evaluación única final:

"De acuerdo con la Normativa de Evaluación y de Calificación de la Universidad de Granada (NCG71/2), se contempla la realización de una evaluación única final que consistirá en lo siguiente:

**1.** El alumno deberá realizar las prácticas de carácter experimental según la programación establecida en la Guía Docente de la asignatura. Asimismo deberá entregar guiones de prácticas e informe de resultados cuando los profesores lo estimen oportuno. El porcentaje será de un 30% sobre la nota final de la asignatura.

**2.** La prueba de evaluación única final, se realizará cuando los profesores lo estimen oportuno y consistirá en una prueba escrita de contenidos y competencias que el alumno debe de acreditar superando la misma (>5). El porcentaje será de un 70% sobre la nota final de la asignatura.

**IMP.** Para acogerse a la evaluación única final, el estudiante, en las dos primeras semanas de impartición de la asignatura, lo solicitará al Director del Departamento, quienes darán traslado al profesorado correspondiente, alegando y acreditando las razones que le asisten para no poder seguir el sistema de evaluación continua. Transcurridos diez días sin que el estudiante haya recibido



*respuesta expresa y por escrito del Director del Departamento, se entenderá que ésta ha sido desestimada. En caso de denegación, el estudiante podrá interponer, en el plazo de un mes, recurso de alzada ante el Rector, quién podrá delegar en el Decano o Director del Centro, agotando la vía administrativa.*

