

MÓDULO	MATERIA	CURSO	SEMESTRE	CRÉDITOS	TIPO
Bioquímica y Biología Molecular	Bioquímica experimental I	3º	5º	6	Obligatoria
PROFESORES <sup>(1)</sup>			DIRECCIÓN COMPLETA DE CONTACTO PARA TUTORÍAS(Dirección postal, teléfono, correo electrónico, etc.)		
<ul style="list-style-type: none"> <li>Rogelio Palomino Morales</li> <li>Eva E. Rufino Palomares</li> <li>Álvaro Andrades Delgado</li> </ul>			Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular I, 4ª planta Edif. Biología, Facultad de Ciencias.		
			Dr. Rogelio Palomino: despacho nº 11. <a href="mailto:rpm@ugr.es">rpm@ugr.es</a> Dra. Eva Rufino: despacho nº 13. <a href="mailto:evaevae@ugr.es">evaevae@ugr.es</a> Profa. Álvaro Andrades: <a href="mailto:alande@ugr.es">alande@ugr.es</a>		
			HORARIO DE TUTORÍAS Y/O ENLACE A LA PÁGINA WEB DONDE PUEDAN CONSULTARSE LOS HORARIOS DE TUTORÍAS <sup>(1)</sup>		
			Martes 16-19 h, Jueves 10-11 h; 16-18 h (Rogelio Palomino) Lunes y viernes de 11 a 14 (Eva Rufino) Viernes 9:30-12h (Álvaro Andrades)		
GRADO EN EL QUE SE IMPARTE			OTROS GRADOS A LOS QUE SE PODRÍA OFERTAR		
Grado en Bioquímica					
PRERREQUISITOS Y/O RECOMENDACIONES(si procede)					
Tener cursadas las asignaturas: Química Orgánica; Química Física; Fundamentos de Bioquímica; Métodos instrumentales cuantitativos.					

<sup>1</sup>Consulte posible actualización en Acceso Identificado > Aplicaciones > Ordenación Docente

(∞)Esta guía docente debe ser cumplimentada siguiendo la "Normativa de Evaluación y de Calificación de los estudiantes de la Universidad de Granada" ([http://secretariageneral.ugr.es/pages/normativa/fichasugr/ngc7121/!](http://secretariageneral.ugr.es/pages/normativa/fichasugr/ngc7121/))

## BREVE DESCRIPCIÓN DE CONTENIDOS (SEGÚN MEMORIA DE VERIFICACIÓN DEL GRADO)

- 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

### Transversales/genéricas:

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

### 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 (EXPRESADOS COMO RESULTADOS ESPERABLES DE LA ENSEÑANZA)

El alumno sabrá/comprenderá:

- Adquirir conocimientos básicos sobre las técnicas más comunes de purificación y análisis de macromoléculas biológicas de interés bioquímico.
- Entender los principios físico-químicos de estas técnicas.
- Manipular los aparatos relacionados con las técnicas de purificación y análisis de macromoléculas biológicas.



- Diseñar protocolos de experimentación para abordar una investigación.
- Presentar los resultados de una investigación.

#### TEMARIO DETALLADO DE LA ASIGNATURA

##### TEMARIO TEÓRICO (0,36 ECTS/ 9h):

1. Introducción. Entrega de material para el diseño de un protocolo experimental.
2. Técnicas bioquímicas de extracción, caracterización y cuantificación 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.
7. Preparación de protocolos experimentales

##### PRÁCTICAS DE LABORATORIO (1,72 ECTS/ 43h):

1. Extracción y caracterización de lípidos neutros. Cuantificación
2. Extracción y caracterización de fosfolípidos. Cuantificación
3. Extracción y caracterización de colesterol y diacilglicerol. Cuantificación
4. Caracterización cinética de un enzima: determinación de la Km y Vmax.
5. Fraccionamiento proteico por sulfato amónico.
6. Purificación del enzima Glutation-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 inmunoblotting.
10. Realización de tabla de purificación.
11. Tratamiento y presentación de resultados.
12. Exposición de resultados experimentales (sesión de poster).

#### 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. Amhersham 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/1336168762999/litdoc28983331\\_20120505002036.pdf](http://www.gelifesciences.com/gehcls_images/GELS/Related%20Content/Files/1336168762999/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. 1965 6: 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 relacionados:**

<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/>

<http://www.cyberlipid.org/extract/extr0002.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 desarrolla:

- 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)

##### **Clases prácticas**

- 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 desarrolla:



- 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)
- 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)
- 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)
- 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)

**EVALUACIÓN (INSTRUMENTOS DE EVALUACIÓN, CRITERIOS DE EVALUACIÓN Y PORCENTAJE SOBRE LA CALIFICACIÓN FINAL, ETC.)**

**Evaluación ordinaria (% de la calificación final):**

- Examen temario teoría y prácticas: 65%.
- Resolución de problemas y casos prácticos: 5%.
- Asistencia, actitud en el laboratorio y realización de los cuadernos de prácticas: 30%.

**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)

**DESCRIPCIÓN DE LAS PRUEBAS QUE FORMARÁN PARTE DE LA EVALUACIÓN ÚNICA FINAL ESTABLECIDA EN LA “NORMATIVA DE EVALUACIÓN Y DE CALIFICACIÓN DE LOS ESTUDIANTES DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA”**

Aquellos estudiantes que no puedan acogerse por diversos motivos al sistema de evaluación continua, podrán someterse a un proceso de evaluación única final, solicitándolo al Director del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I durante las dos primeras semanas de impartición de la asignatura. La evaluación única final constará de un examen escrito de los contenidos del programa teórico de la asignatura, y un examen de los contenidos del programa de prácticas, que podrá incluir preguntas de desarrollo o de opción múltiple, problemas numéricos, así como la realización experimental de alguna práctica de laboratorio.

La nota final de la asignatura se obtendrá de la nota de teoría, que supondrá hasta el 70% de la nota final, y de la nota de prácticas que supondrá hasta el 30% de la nota final.

**PROGRAMA DE ACTIVIDADES**

		ACTIVIDADES PRESENCIALES	ACTIVIDADES NO PRESENCIALES
--	--	--------------------------	-----------------------------



SEMESTRE 5	Tema	Teoría (horas)	Prácticas (horas)	Exámenes (horas)	Contenidos	Estudio de teoría y problemas (horas)	Preparación de trabajos (horas)
SEMANA 1 (10-14sep)	1,2	2			Introducción. Entrega de material para el diseño de un protocolo experimental. Técnicas bioquímicas de extracción y caracterización de lípidos.	1	10
SEMANA 2 (17-21sep)	3,4	3			Técnicas de purificación de proteínas. Principios básicos. Estrategias de purificación. Técnicas inmunológicas de caracterización y análisis de la expresión de proteínas.	1	10
SEMANA 3 (24-28sep)	5, 6, 7	4			Caracterización cinética de enzimas. Aislamiento y caracterización parcial de proteínas. Preparación de protocolos experimentales.	1	10
SEMANA 4 (1-5oct)	P1-8 (G1)		33/G-I		-Extracción y caracterización de lípidos neutros, fosfolípidos, colesterol y diaciglicerol. Cuantificación -Fraccionamiento proteico por precipitación con sulfato amónico -Purificación de GST mediante cromatografía de afinidad. -Determinación de concentración de proteínas y actividad enzimática GST. -Caracterización cinética de una enzima: determinación de la Km y Vmax -Análisis de la cantidad de proteína en cada fracción mediante SDS-PAGE	1	
SEMANA 5 (8-11oct)	P9 (G1) P1-4 (G2)		5/G-I 20/GII		-Análisis de la cantidad específica de la proteína en cada fracción mediante inmunoblotting -Fraccionamiento proteico por precipitación con sulfato amónico -Purificación de GST mediante cromatografía de afinidad. -Caracterización cinética de una enzima: determinación de la Km y Vmax. -Determinación de concentración de proteínas y actividad enzimática GST.	1	



SEMANA 6 (15-19oct)	P5-9 (G2) P1-3 (G2) Prueba (G1)		18/GII 15/GII	1,5/G-I	<p>-Análisis de la cantidad de proteína en cada fracción mediante SDS-PAGE.</p> <p>-Análisis de la cantidad específica de la proteína en cada fracción mediante inmunoblotting</p> <p>-Extracción y caracterización de lípidos neutros, fosfolípidos, colesterol y diaciglicerol. Cuantificación</p> <p>-Fraccionamiento proteico por precipitación con sulfato amónico</p> <p>-Purificación de GST mediante cromatografía de afinidad.</p> <p>-Caracterización cinética de una enzima: determinación de la Km y Vmax.</p> <p>-Prueba prácticas grupo I (15 octubre)</p>	3,5	6
SEMANA 7 (22-26oct)	P4-9 (G2) Prueba (G2)		23/GII	1,5/G-II	<p>-Determinación de concentración de proteínas y actividad enzimática GST.</p> <p>-Análisis de la cantidad de proteína en cada fracción mediante SDS-PAGE.</p> <p>-Análisis de la cantidad específica de la proteína en cada fracción mediante inmunoblotting</p> <p>-Extracción y caracterización de lípidos neutros, fosfolípidos, colesterol y diaciglicerol.</p> <p>- Prueba prácticas grupo II (24 octubre)</p>	3,5	6
SEMANA 8 (29oct- 2nov)	P10-11 (G1, G1 y GIII)		3/ G1, GII y GIII		Realización de tablas de purificación y Tratamiento y presentación de resultados (30 octubre)	3,5	6
SEMANA 9 (5-9nov)	Prueba (G3)			1,5/G-III	- Prueba prácticas grupo III (9 Noviembre)	3,5	6
SEMANA 10 (12-15nov)							6
SEMANA 11 (19-23nov)	P12 (G1, G1 y GIII)		2/G1, GII y GIII		Exposición de resultados (sesión de poster) (20 noviembre)		
SEMANA 12 (26nov- 30nov)						5,5	
SEMANA 13 (3-7dic)				3,5	Examen temario de teoría y prácticas (3 Diciembre)	5,5	
SEMANA 14 (10-14dic)							
<b>Total horas</b>		<b>9</b>	<b>43</b>	<b>8</b>		<b>30</b>	<b>60</b>

