

Guía docente de la asignatura

Técnicas de Bioconjugación

Fecha última actualización: 21/06/2021

Fecha de aprobación: 21/06/2021

Grado	Grado en Biotecnología	Rama	Ciencias				
Módulo	Complementos de Biotecnología	Materia	Técnicas de Bioconjugación				
Curso	4º	Semestre	1º	Créditos	6	Tipo	Optativa

PRERREQUISITOS Y/O RECOMENDACIONES

Tener conocimientos adecuados sobre:

- Conocimientos básicos de Química General y de Química Orgánica.
- Comprensión de textos en inglés científico

BREVE DESCRIPCIÓN DE CONTENIDOS (Según memoria de verificación del Grado)

Reactividad química de las biomoléculas. Modificaciones químicas de las proteínas. Bioconjugación. Inmovilización de biomoléculas a soportes sólidos.

COMPETENCIAS ASOCIADAS A MATERIA/ASIGNATURA**COMPETENCIAS GENERALES**

- CG04 - Conocer los principios básicos de la estructura y funcionalidad de los sistemas biológicos.
- CG05 - Capacidad para comprender los mecanismos de modificación de los sistemas biológicos y proponer procedimientos de mejora y utilización de los mismos.

COMPETENCIAS ESPECÍFICAS

- CE40 - Saber utilizar los conocimientos de los principios básicos de la estructura y funcionalidad de los sistemas biológicos.
- CE41 - Capacidad para modificar los sistemas biológicos y proponer procedimientos de mejora y utilización de los mismos.

COMPETENCIAS TRANSVERSALES

- CT03 - Capacidad de aplicar los conocimientos en la práctica y de resolver problemas
- CT05 - Razonamiento crítico
- CT09 - Capacidad de trabajar en equipo y en entornos multidisciplinares

RESULTADOS DE APRENDIZAJE (Objetivos)

- Conocer la reactividad química de las biomoléculas.
- Conocer las técnicas para llevar a cabo el etiquetado y marcaje de una biomolécula.
- Saber diseñar estrategias sencillas de bioconjugación de biomoléculas.
- Conocer las técnicas para llevar a cabo la inmovilización de una biomolécula a un soporte sólido.
- Saber diseñar estrategias sencillas de inmovilización de biomoléculas.
- Acercarse a la modificación de las biomoléculas desde la perspectiva de la química Orgánica

Los objetivos de la presente asignatura tienen interés con las competencias propias que un biotecnólogo debe poseer en relación a la investigación y la actividad profesional propias de esta disciplina. En ambas parcelas el conocer la química de biomoléculas y de cómo hacer uso de la misma para la ejecución de aplicaciones rutinarias en el actual estado del arte de la biotecnología, tales como el marcaje, etiquetado e inmovilización de biomoléculas a soportes de distinta naturaleza son de obligado conocimiento

PROGRAMA DE CONTENIDOS TEÓRICOS Y PRÁCTICOS

TEÓRICO

Tema 1: Reactividad química de las biomoléculas. - En este tema se analizan los motivos responsables de la baja reactividad química de las biomoléculas, se revisan los grupos químicos susceptibles de ser aprovechados en bioconjugación, se analizan los factores que condicionan la reactividad, se introduce a la predicción *in silico* de estructura terciaria como herramienta para estimar y discutir la reactividad de diferentes residuos de las proteínas. El tema 1 se articula en los siguientes epígrafes:

- Introducción a la reactividad química de biomoléculas
- Reactividad de las proteínas
- Grupos reactivos
- Generalidades sobre la reactividad de los aminoácidos
- Factores que afectan a la reactividad de las proteínas
- Predicción *in silico* de estructura terciaria de proteínas
- Reactividad de carbohidratos
- Reactividad de ácidos nucleicos

Tema 2: Reactividad química de grupos reactivos fundamentales. - Este tema presenta de forma genérica las reacciones más importantes que desde el punto de vista de la bioconjugación pueden sufrir las proteína, los carbohidratos y los ácidos nucleicos. Introduce los conceptos de reactividad y de quimioselectividad para estimar los residuos/zonas más reactivas de una proteína y las estrategias más comunes para introducir o bloquear grupos reactivos en las proteínas. El tema 2 se articula en los siguientes epígrafes:



- Concepto de bioconjugación
- Reactividad de Lys
- Reactividad de Glu/Asp. Agentes de acoplamiento
- Reactividad de Cys. Reacciones comunes de aminas y tioles: quimioselectividad y regioselectividad en reacciones con proteínas
- Reactividad de Tyr
- Reacciones de carbohidratos
- Reacciones de ácidos nucleicos
- Reacciones para introducir grupos funcionales en proteínas
- Reacciones para bloquear grupos funcionales en proteínas: biotin-switch

Tema 3: Reactivos utilizados en bioconjugación. - En este tema se desarrollan los conceptos presentados en el tema anterior para entender la química que subyace a la bioconjugación y para abordar el problema de la regioselectividad de las reacciones de bioconjugación. Se describirán los reactivos comerciales más importantes desde el punto de vista de la bioconjugación y se incidirá en los aspectos claves para la elección del reactivo comercial y las condiciones de reacción adecuadas. Se introducen los conceptos de reacción bioortogonal y de click chemistry. El tema 3 se articula en los siguientes epígrafes:

- Reactivos que reaccionan con el grupo amino
- Reactivos que reaccionan con tioles
- Reactivos que reaccionan con el grupo carboxilo
- Reactivos que reaccionan con fenoles
- Selectividad y bioortogonalidad: i) Estrategias basadas en funciones presentes en proteínas y ii) Estrategias basadas en funciones no presentes en proteína: click chemistry

Tema 4: Aplicaciones biotecnológicas de la bioconjugación. - En este tema se aplican los conocimientos de reactividad de macromoléculas al marcaje y entrecruzamiento de las mismas. Se incidirá en los aspectos prácticos clave a la hora de seleccionar de un catálogo los agentes de entrecruzamiento o de marcaje. Se expondrán los principios generales de los agentes de entrecruzamiento químico comerciales, así como la aplicación de la interacción biotina-(estrept)avidina como agente de entrecruzamiento. Se presentarán los principales marcajes fluorescentes de aplicación biotecnológica en el mercado y se incidirá en la importancia del marcaje con NIR en estudios in vivo. El tema 4 se articula en los siguientes epígrafes:

- Entrecruzamiento
- Cross-linkers: - Características generales y tipos
- Criterios generales para la selección de cross-linkers
- Tecnología biotina-(estrept)avidina
- Aplicaciones y ejemplos
- Marcaje
- Fluorescencia: derivados de fluoresceína, derivados de rodamina, quantum dots y otros
- NIR
- Aplicaciones: FRET, DIGE, proteómica cuantitativa

Tema 5: Inmovilización de biomoléculas a soportes sólidos. - En este tema se aplican los conocimientos de reactividad de macromoléculas a su inmovilización en soporte sólido. Se describirán las estrategias generales de inmovilización y los soportes activados más comunes. Se incidirá en la importancia biotecnológica de la inmovilización de moléculas, se desarrollará el concepto de array y se presentarán ejemplos de su aplicación biotecnológica. El tema 5 se articula en los siguientes epígrafes:

- Estrategia biológica (proteínas recombinantes)
- His-tag



- GST-tag
- Aplicaciones y ejemplos: experimentos pull down
- Estrategia química (proteínas químicas)
- Uso de reacciones quimioselectivas para promover la regioselectividad
- Native Chemical Ligation (NCL)
- Ejemplos
- Soportes activados
- Inmovilización de enzimas- Estrategias químicas: concentración efectiva, rigidificación
- Soportes multifuncionales clásicos
- Soportes funcionales de segunda generación
- Microarrays
- Química de superficie: específica vs no específica
- Tecnología de fabricación

PRÁCTICO

Seminarios:

Seminarios temáticos individuales o por grupos según número de alumnos en la asignatura sobre los siguientes temas:

- Diseño de agentes de transfección
- Transporte dirigido de fármacos
- Free Cu click chemistry: potencial y alternativas
- Modificación de proteínas: estrategias químicas frente a estrategias biológicas
- Diseño de arrays
- Estrategias para el estudio de modificaciones post-transduccionales: glicosidación, S-nitrosación, Tyrnitrosación.
- Cualquier tema propuesto por los alumnos que se ajuste al temario de la asignatura.

Prácticas de laboratorio

- **Estudio de la reactividad de proteínas con el grupo vinilsulfona.** - El alumno hará reaccionar el reactivo modelo remazol blue vinilsulfona con las proteínas modelo lisozima, BSA, ferritina y HRP a distintos pH, temperaturas y tiempos de reacción, y analizará los resultados mediante SDS-PAGE. Discutirá la influencia de la proteína y las condiciones de reacción sobre la bioconjugación y definirá las condiciones de reacción óptimas para cada proteína.
- **Síntesis química de glicoproteínas y detección mediante ELLA.** - El alumno hará reaccionar las tres proteínas modelo con el reactivo manosa vinilsulfona en las mejores condiciones de pH, temperatura y tiempo identificadas en la práctica anterior. Los neoglicoconjugados obtenidos se analizarán mediante ELLA
- **Síntesis de una resina funcionalizada con concanavalina A y aplicación al aislamiento de glicoproteínas.** El alumno hará reaccionar sílica vinilsulfona con concanavalina A para sintetizar un soporte de cromatografía de afinidad apto para aislar glicoproteínas que presenten manosa. Realizará un experimento de pull down.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA FUNDAMENTAL



Bioconjugate Techniques. Gregg T- Hermanson, Academic Press, Elsevier, (accesible en formato electrónico a partir de la biblioteca de la ugr)

BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA

Chemoselective and bioorthogonal ligation reactions: Concepts and applications. W. Russ Algar, Philip Dawson & Igor L. Medintz (Eds), Willey

ENLACES RECOMENDADOS

Bioconjugate Techniques (Third Edition): <http://www.sciencedirect.com/science/book/9780123822390>

Molecular Probes

Handbook: <https://www.thermofisher.com/es/es/home/references/molecular-probes-thehandbook.html?icid=fr-molprobeshandbook-main>

PRADO2: <https://prado.ugr.es/>

METODOLOGÍA DOCENTE

- MD01 Clases de teoría
- MD02 Clases de prácticas: Prácticas usando aplicaciones informáticas
- MD03 Clases de prácticas: Prácticas en laboratorio
- MD04 Clases de prácticas. Clases de problemas
- MD06 Trabajo autónomo del alumnado
- MD07 Tutorías

EVALUACIÓN (instrumentos de evaluación, criterios de evaluación y porcentaje sobre la calificación final)

EVALUACIÓN ORDINARIA

La calificación del estudiante (0 a 10 puntos) resultará de la evaluación de las diferentes partes de la asignatura que se realizara según los siguientes criterios.

- **Evaluación directa.** Un 10% de la nota procederá de la evaluación directa por parte del profesor en las clases presenciales, seminarios y las tutorías. En esta evaluación se tendrán en cuenta distintos aspectos, entre los que cabe destacar: a) Participación en clases presenciales y en las discusiones planteadas en los seminarios; b) Progreso en el uso de conceptos y terminología propios de la asignatura; c) Desarrollo de la visión crítica de los conceptos y aplicaciones desarrollados durante el curso.
- **Evaluación de los seminarios.** Un 10% de la nota se obtendrá como resultado de la exposición y participación en los seminarios de exposición temática que serán expuestos en los seminarios y/o presentados de forma escrita. Se evaluará la capacidad de síntesis y de exposición de una forma global del tema, el aporte de bibliografía y el desarrollo de conocimiento.
- **Evaluación de clases prácticas.** La asistencia a las clases prácticas es obligatoria. Estas



supondrán un **10%** de la nota y se realizará con evaluación continuada del trabajo en el laboratorio, con la valoración del cuaderno de laboratorio y, opcionalmente, con un examen tras la finalización de las mismas.

- **Pruebas escritas.** Un **70%** de la nota se obtendrá a partir de los resultados obtenidos en pruebas escritas. En las pruebas escritas se plantearán preguntas (preguntas cortas, desarrollo de temas, resolución de problemas, etc.) correspondientes a los contenidos del programa de la asignatura de forma que obliguen al estudiante a relacionar aspectos de la asignatura que aparezcan en distintos temas.

EVALUACIÓN EXTRAORDINARIA

Los alumnos que no superen la asignatura en la convocatoria ordinaria dispondrán de una convocatoria extraordinaria, como recoge In artículo 19 de la Normativa de evaluación y de calificación de los estudiantes de la Universidad de Granada. Las pruebas y criterios de evaluación serán:

- Prueba escrita sobre los contenidos teóricos desarrollados en la asignatura. Contribuyen con un **70%** a la calificación final.
- Prueba escrita sobre los contenidos desarrollados en las clases prácticas. Contribuyen con un **30%** a la calificación final

EVALUACIÓN ÚNICA FINAL

Aquellos alumnos que, amparándose en el artículo 8 de la Normativa de evaluación y de calificación de los estudiantes de la Universidad de Granada, se acojan a su derecho a evaluación única, las pruebas y criterios de evaluación serán:

- Prueba escrita sobre los contenidos teóricos desarrollados en la asignatura. Contribuyen con un **70%** a la calificación final
- Prueba escrita sobre los contenidos desarrollados en las clases prácticas. Contribuyen con un **30%** a la calificación final

