



Datos básicos de la asignatura

Titulación:	Grado en Bioquímica por la Universidad de Sevilla y Universidad de Málaga
Año plan de estudio:	2011
Curso implantación:	2011-12
Centro responsable:	Facultad de Biología
Nombre asignatura:	Bioquímica e Ingeniería de Proteínas
Código asignatura:	2240054
Tipología:	OPTATIVA
Curso:	4
Periodo impartición:	Cuatrimestral
Créditos ECTS:	6
Horas totales:	150
Área/s:	Bioquímica y Biología Molecular
Departamento/s:	Bioquímica Vegetal y Biología Molecular

Objetivos y competencias

CONTEXTO Y OBJETIVOS DE LA ASIGNATURA

La última década ha sido testigo de un aumento increíble en la utilización de enzimas como biocatalizadores sostenibles, de gran potencial medioambiental, y en aplicaciones farmacéuticas e industriales. Esta tendencia ha sido impulsada en gran medida por los avances en la capacidad de los bioquímicos para re-diseñar las enzimas nativas mediante la ingeniería de proteínas. Una revisión de la literatura revela rápidamente el tremendo éxito de este enfoque. La ingeniería de proteínas ha generado variantes enzimáticas con actividad catalítica mejorada, especificidad de sustrato ampliada o alterada, así como estereoselectividad elevada o invertida. Las enzimas se han diseñado para retener la actividad a temperaturas elevadas y para funcionar en presencia de solventes orgánicos, sales y valores de pH lejos de las condiciones fisiológicas. No sólo eso, pues en los últimos años se está consiguiendo sintetizar proteínas de novo, por ejemplo para poder catalizar la eliminación de compuestos antropogénicos o utilizar como vehículos en novedosos tratamientos contra enfermedades humanas como el cancer. En la asignatura de Bioquímica e Ingeniería de Proteínas discutiremos sobre todos estos avances y aprenderemos una serie de técnicas básicas para poder re-diseñar proteínas, tanto in silico como experimentalmente en el laboratorio. Igualmente, revisaremos una variedad de técnicas experimentales que se han empleado para lograr estas hazañas de ingeniería bioquímica, recientemente galardonada con un premio Nobel. En resumen, esta asignatura será una breve, pero completa, descripción de las principales estrategias para la ingeniería de proteínas en el pasado, presente y futuro.



PROGRAMA DE LA ASIGNATURA Bioquímica e Ingeniería de Proteínas

Al ser una asignatura de 4º curso del Grado en Bioquímica, se parte de una base sólida de conocimiento del estudiante de asignaturas impartidas en los cursos anteriores sobre Estructura de Macromoléculas, Enzimología, Fundamentos de Bioquímica o Tecnología del DNA recombinante. Los objetivos específicos de la asignatura son introducir al estudiante en los métodos actuales para el diseño rápido y eficaz de proteínas, su producción y su aplicación en distintas áreas de la Biotecnología. Para ello, la asignatura tiene como objetivos:

1. Reforzar los conocimientos teóricos adquiridos en los que se sustenta la relación estructura-función de las proteínas
2. Enseñar los conceptos básicos de ingeniería de proteínas aplicables al diseño de enzimas.
3. Introducir aspectos prácticos sobre la generación de mutaciones, métodos de selección y rastreo, así como el abordaje de la producción de enzimas.
4. Enseñar distintas herramientas computacionales para el modelado y el diseño de proteínas, así como las principales estrategias para el diseño racional.
5. Dar a conocer las aplicaciones y los ejemplos más relevantes y actuales de la ingeniería de proteínas.
6. Proveer al estudiante de las habilidades necesarias para la resolución de problemas relacionados con los conocimientos adquiridos.
7. Promover el manejo de bibliografía y de las herramientas bioinformáticas específicas

2. COMPETENCIAS:

Trasversales/genéricas

- Conocimientos acerca de los sistemas biológicos
- Introducción a la metodología del trabajo experimental, fomentar la inquietud y gusto por la ciencia



- Capacidad de razonamiento crítico y autocrítico
- Capacidad de transmisión de conocimiento
- Favorecer el aprendizaje y trabajo autónomo: fomentar la autoformación del alumno y su capacidad de organizar y planificar
- Familiarización con la literatura científica: transición desde el libro de texto a las publicaciones científicas
- Trabajo en equipo de forma colaborativa y con responsabilidad compartida
- Promover la capacidad de transmisión de conocimiento y la comunicación oral

Específicas

- Conocer los principios básicos que determinan la estructura de proteínas
- Conocer la relación estructura-función en proteínas y los métodos de análisis de la misma
- Comprender las Bases Bioquímicas de las modificaciones postraduccionales, tráfico intracelular, localización y recambio de proteínas.
- Conocer los principios químicos y termodinámicos del plegamiento y la interacción de proteínas
- Comprender las bases bioquímicas de las modificaciones post-traduccionales, tráfico intracelular, localización y recambio de Proteínas
- Conocer los principales métodos de mutagénesis e ingeniería de proteínas
- Conocer los sistemas principales de producción de proteínas recombinantes en sistemas heterólogos
- Conocer los principios básicos de producción de proteínas en la industria y sus aplicaciones biotecnológicas
- Poseer habilidades para el trabajo en el laboratorio, así como habilidades e informáticas para la búsqueda de información en bases de datos y en fuentes bibliográficas



- Conocer los fundamentos del diseño y modelado molecular.

Contenidos o bloques temáticos

CONTENIDOS DE LA ASIGNATURA

Esta asignatura pretende introducir al estudiante en la metodología actual para el diseño rápido y eficaz de proteínas, su producción y su aplicación en distintas áreas de la Biotecnología y/o Biomedicina. Se pretende que el alumno comprenda y se familiarice en profundidad con aspectos cinéticos y mecanismos de actividad de las proteínas, especialmente las enzimas, que conozca las posibilidades técnicas de modificación y obtención de las mismas y sus posibles aplicaciones de interés biotecnológico. Para ello, la primera parte de la asignatura estudiarán diferentes métodos de análisis estructural, predicción y diseño de proteínas, mientras que en la segunda parte se estudiarán los métodos actuales para la obtención de variantes de proteínas, los procesos de producción de las mismas y se describirán algunas de las principales aplicaciones biotecnológicas.

Relación sucinta de los contenidos (bloques temáticos en su caso):

BLOQUE I: EVOLUCIÓN DE LAS PROTEÍNAS. MÉTODOS DE ANÁLISIS ESTRUCTURAL, PREDICCIÓN Y DISEÑO DE PROTEÍNAS.

- Introducción. Bases conceptuales y metodológicas del rediseño y modificación funcional de las proteínas. La cuestión básica: secuencias peptídicas y estructuras asociadas.
- Conceptos básicos de estructura y funcionamiento de proteínas. Dinámica, estabilidad y plegamiento de proteínas, disolventes y medios de reacción. Plegamiento, estructura nativa y estabilidad de péptidos y proteínas: interacciones implicadas en la estabilización conformacional de las cadenas polipeptídicas. Modelos de plegamiento: criterios cinéticos y termodinámicos. Factores coadyuvantes del plegamiento.
- Acceso y utilización de bases de datos secuenciales y estructurales de proteínas, así como de herramientas bioinformáticas específicas de proteínas. Uniprot, InterPro,, SwissProt, Brookhaven Protein Data Bank: recursos telemáticos y metodología básica.
- Identificación y diseño de elementos estructurales y funcionales a partir de motivos secuenciales: Prosite. Identificación y diseño de elementos estructurales y funcionales a



PROGRAMA DE LA ASIGNATURA Bioquímica e Ingeniería de Proteínas

partir de motivos secuenciales. Descripciones "lineales" de motivos secuenciales: PROSITE. Descripciones y métodos matriciales. La matriz de Dayhoff y otras matrices de distancia. Técnicas de alineamiento y análisis de homología entre secuencias polipeptídicas. Algoritmo de Needleman-Wunch. Generalización del algoritmo de Needleman-Wunch: alineamiento múltiple de proteínas. Alineamiento de proteínas (Clustal).

- De la secuencia a la estructura y la función: métodos de análisis estructural, predicción y diseño de proteínas. Obtención y análisis de estructuras de proteínas: PDB, PyMol, Swiss PDB Viewer, Phyre2. Modelización estructural mediante homología. Predicción de estructura 3D y modelado conformacional: Swiss Model, evolución de genomas y evolución proteica.

- Principales abordajes experimentales en la mejora de proteínas. Estabilidad y plegamiento. Reglas de diseño de proteínas termoestables. Introducción de puentes disulfuro. Modificación de loops. Generación de mutaciones. Estabilización de hélices.

BLOQUE II: MUTAGÉNESIS MEDIANTE DISEÑO RACIONAL, EVOLUCIÓN DIRIGIDA Y NUEVOS SISTEMAS DE EDICIÓN DE GENOMAS IN VIVO.

- Diseño racional de proteínas (rational design): la mutagénesis dirigida como herramienta de análisis y modificación de proteínas.

- Métodos basados en el empleo de la PCR para la sustitución, inserción y eliminación de aminoácidos. Intercambios de módulos y dominios. Proteínas quiméricas y de fusión. Modificaciones post-traduccionales

- Modificación de la estabilidad y especificidad proteicas.

- Evolución dirigida de proteínas (direct evolution): mutagénesis al azar e ingeniería de proteínas por métodos combinatorios. Métodos de generación y selección de variantes. Ejemplos de proteínas rediseñadas. Diseño de novo de nuevas proteínas y enzimas.

- Introducción a los algoritmos computacionales: Rosetta

- Mutagénesis in vivo. Sistemas de edición de genomas basados en tecnología CRISPR-Cas

BLOQUE III: PRODUCCIÓN DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES EN SISTEMAS



UNIVERSIDAD
DE SEVILLA

PROGRAMA DE LA ASIGNATURA Bioquímica e Ingeniería de Proteínas

HETERÓLOGOS.

- Sistemas de expresión de alto rendimiento.
- Estrategias generales para la expresión heteróloga de proteínas recombinantes: expresión heteróloga en diferentes organismos
- Optimización de promotores y mensajeros en procariontas.
- Proteínas de fusión y proteínas nativas. Secreción de proteínas recombinantes.
- Expresión de alto rendimiento en eucariotas. Vectores y estrategias de expresión en levadura. Sistema de expresión mediante baculovirus. Modificaciones post-translacionales. Expresión de alto rendimiento en eucariotas: sistemas de expresión en cultivos celulares y sistemas de expresión libres de células (cell-free). Metodologías para la purificación y el análisis de proteínas recombinantes

BLOQUE IV: APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS DE LAS PROTEÍNAS.

- Aplicaciones de la ingeniería de proteínas en la investigación básica. Ejemplos y aplicaciones de la ingeniería de proteínas en el análisis, modificación y mejora de la estructura, la estabilidad, y la funcionalidad. Nuevas fuentes de enzimas industriales. Enzimas de relevancia en biomedicina y biotecnología.

BIBLIOGRAFIA

Bibliografía general

PROTEIN ENGINEERING HANDBOOK (vols. 1 y 2). S. Lutz, U.T. Bornscheuser, Wiley-VCH, 2009

BIOQUÍMICA. C. K. Mathews, K. E. van Holde & K. G. Ahern, Addison Wesley, 2008

LEHNINGER PRINCIPLES OF BIOCHEMISTRY. D.L. Nelson & M. M. Cox, Worth Publishers, 2009

TEXT BOOK OF STRUCTURAL BIOLOGY. A. Liljas, L. Liljas, J. Piskur, G. Lindblom, P. Nissen & M. Kjeldgaard, World Scientific, 2009



UNIVERSIDAD
DE SEVILLA

PROGRAMA DE LA ASIGNATURA Bioquímica e Ingeniería de Proteínas

PROTEINS: STRUCTURES AND MOLECULAR PROPERTIES. T. E. Creighton, W.H. Freeman & Co. 2002

Protein Folding. T. E. Creighton. (1992) .W. H. Freeman and Company. New York

Bibliografía específica

Molecular Design and Modeling. Part A: Proteins, Peptides and Enzymes (1991) Academic Press Inc. New York. Methods in Enzimology Vol. 202

Molecular Evolution: Computer Analysis of Protein and Nucleic Acid Sequences. (1991) Academic Press Inc. New York. Methods in Enzimology Vol. 183

Prediction of Protein Structure and the Principles of Protein Conformation (1990) G.D. Fasman. Plenum Press. New York.

Protein Engineering and Design (2010) Edited by Sheldon J. Park, Jennifer R. Cochran. CRC Press

Protein stability and folding. theory and practice. B.A. SHIRLEY (Ed.), Methods in Molecular Biology, Vol. 40, Humana Press, 1995

Short Protocols in Protein Science. J.E. Coligan, B.M. Dunn, D.W. Speicher, P.T. Wingfield (Eds.), John Wiley and Sons, 2003

Basic Methods in Protein Purification and Analysis. R.J. Simpson, P.D. Adams, E.A. Golemis (Eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2009

Introduction to protein architecture: the structural biology of protein. A. M. Lesk, Oxford University Press, Oxford 2001

Structure in Protein Chemistry. J. Kyte, Garland Science 2006. Publicación: ISBN: 0-8153-3867-8

Proteins: Structure and Function. D. Whitford Repr. with corr. 2005 Publicación: ISBN: 0471498947(p/b)

Directed Enzyme Evolution (2005), edited by N.E. Abrou. Biomolecular Engineering Volume 22, Issues 1-3. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1389034405000390>



UNIVERSIDAD
DE SEVILLA

PROGRAMA DE LA ASIGNATURA Bioquímica e Ingeniería de Proteínas

In vitro mutagenesis protocols. Third edition (Edited by Jeff Braman). Methods in Molecular Biology 634. Humana Press.
<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-1-60761-652-8.pdf>

Protein Science, Edited By: Brian W. Matthews. John Wiley & Sons, Inc. Online ISSN: 1469-896X. [http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1002/\(ISSN\)1469-896X](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1002/(ISSN)1469-896X)

Artículos de investigación

Se proporcionará una lista de artículos de investigación relevantes para el desarrollo de la asignatura, incluyendo prácticas y protocolos.

Actividades formativas y horas lectivas

Actividad	Horas	Créditos
A Clases Teóricas	40	4
C Clases Prácticas en aula	20	2

Metodología de enseñanza-aprendizaje

ACTIVIDADES FORMATIVAS (Metodología docente)

ACTIVIDADES DOCENTES

- Clases teóricas

Horas presenciales: 33

Metodología de enseñanza-aprendizaje:

- 1) Presentación de los objetivos de cada uno de los bloques, su motivación, y bibliografía básica para el aprendizaje de los contenidos.
- 2) Introducción de los contenidos mediante lección magistral y multimedia elaborados por los profesores, utilizando para ello la plataforma de enseñanza virtual.
- 3) Búsqueda de información en internet.



UNIVERSIDAD
DE SEVILLA

PROGRAMA DE LA ASIGNATURA Bioquímica e Ingeniería de Proteínas

4) Resolución de dudas y otras cuestiones en sesiones presenciales.

Asistencia voluntaria. Duración de 1h 20 minutos. Se impartirán dos días a la semana en un aula del edificio rojo de la Facultad de Biología, según el calendario aprobado por la Junta de Centro. A los alumnos se les facilitará copia del material audiovisual que se vaya a emplear durante el curso a través de la plataforma de la Enseñanza Virtual. Se fomentará la interacción profesor-alumno, resolviéndose las dudas en tutorías individualizadas y colectivas.

- Cuestionarios o/y casos prácticos

Horas presenciales: 3

Metodología de enseñanza-aprendizaje: El alumno contesta cuestiones relativas al temario de la asignatura y en un plazo limitado de tiempo. Se pretende hacer reflexionar al alumno en un ambiente más relajado y con cuestiones más desenfadadas, pero que les obligue a manejar los conceptos y principios fundamentales expuestos en clase.

- Trabajo científico mediante el diseño de un póster científico

Horas presenciales: 4

Metodología de enseñanza-aprendizaje: Los pósteres se realizarán sobre una temática, sugerida por el profesor o por los propios alumnos, estrechamente relacionada con el programa del curso. Serán individuales. Se trata de ampliar y desarrollar temáticas tratadas directamente o muy relacionados con el contenido del curso. Se pretende que el alumno coja destreza en el diseño de póster científico. Los pósteres científicos serán impresos en formato A5 y expuestos en la clase, facilitando la posterior discusión entre alumnos y profesor. Además, cada alumno realizará una presentación corta del contenido del póster, durará unos 10 minutos, y el estudiante podrá utilizar para ello cualquiera de los medios de presentación disponibles, recomendándose el uso de presentaciones con ordenador. Tras la exposición, tanto los estudiantes como el profesor podrán realizar las preguntas y comentarios que consideren oportunos.

- Prácticas de laboratorio



UNIVERSIDAD
DE SEVILLA

PROGRAMA DE LA ASIGNATURA Bioquímica e Ingeniería de Proteínas

Horas presenciales: 20

Metodología de enseñanza-aprendizaje:

La asistencia a las prácticas de laboratorio es obligatoria para aquellos que no las hayan realizado y superado en cursos anteriores y requisito indispensable para aprobar la asignatura. Se realizarán en sesiones de 4 horas en los laboratorios del edificio verde de la Facultad de Biología, según el calendario aprobado por la Junta de Centro. Las prácticas se evaluarán mediante la presentación por parte de los alumnos de un dossier con los resultados obtenidos que incluya discusión crítica y conclusiones y por la contestación a cuestionarios relacionados con las mismas al final de cada sesión.

- Tutorías individuales de contenido programado

Resolución de dudas y otras cuestiones planteadas por el alumno en sesiones presenciales. Se llevarán a cabo según el reglamento de la US. El horario de las tutorías se encuentra publicado en el portal web del departamento de Bioquímica Vegetal y Biología Molecular

Sistemas y criterios de evaluación y calificación

EVALUACIÓN

SISTEMAS Y CRITERIOS DE EVALUACIÓN Y CALIFICACIÓN

- EJERCICIO ESCRITO (Prueba teórica)

Ejercicio escrito (45%)

Por tratarse de una asignatura cuatrimestral del primer parcial, durante el mes de febrero habrá una única prueba teórica, aplicándose el mismo criterio durante las convocatorias de septiembre y diciembre. Esta prueba teórica consistirá en un ejercicio escrito de una duración de 2,5 horas en el que se evaluará el aprendizaje del alumno en contenidos teóricos. Se valorarán los conocimientos, la integración de diferentes conocimientos, la interpretación de resultados experimentales, etc...



UNIVERSIDAD
DE SEVILLA

PROGRAMA DE LA ASIGNATURA Bioquímica e Ingeniería de Proteínas

- CUESTIONES

Resolución de las cuestiones y/casos prácticos (15%)

Las respuestas a estas cuestiones se evaluarán en base a la capacidad de síntesis, la exactitud y claridad en la exposición de los datos presentados.

- ENSEÑANZA PRÁCTICA

Prácticas de Laboratorio (20%)

El aprendizaje y la participación del alumno en las prácticas se evaluará mediante el seguimiento por parte del profesor del trabajo desarrollado por los alumnos en el laboratorio, así como por la evaluación del informe de las prácticas que el alumno deberá presentar por escrito. Se valorará la capacidad del alumno para analizar los datos obtenidos durante la misma y la calidad de la memoria científica presentada. Dicho informe deberá incluir los resultados obtenidos, su discusión y la respuesta a posibles cuestiones prácticas planteadas.

- TRABAJO CIENTÍFICO

Preparación de Póster científico y su Exposición (20%)

Se evaluará tanto la exposición oral como el diseño del póster presentado por el alumno. Se tendrá en cuenta la capacidad de síntesis, la exactitud y claridad en la presentación de los datos.

EVALUACIÓN GLOBAL

Las puntuaciones obtenidas en los apartados de EJERCICIO ESCRITO, CUESTIONES, ENSEÑANZA PRÁCTICA y TRABAJO CIENTÍFICO se sumarán para constituir la calificación final, teniendo en cuenta que la asistencia y realización de las prácticas son obligatorias. Las puntuaciones obtenidas en ENSEÑANZA PRÁCTICA y TRABAJO CIENTÍFICO serán válidas hasta la convocatoria de Diciembre.

Será necesario obtener una calificación mínima de 5 sobre 10 en el EJERCICIO ESCRITO para que la puntuación obtenida en el resto de actividades de la asignatura sea



UNIVERSIDAD
D SEVILLA

PROGRAMA DE LA ASIGNATURA Bioquímica e Ingeniería de Proteínas

considerada en la nota final. Para aprobar la asignatura será necesario obtener una nota final igual o superior a 5.