Universitat Autònoma de Barcelona

2022/2023

Laboratorio integrado 5

Código: 100882
Créditos ECTS: 3

Titulación	Tipo	Curso	Semestre
2500252 Bioquímica	OB	3	1

Contacto

Nombre: Mohammed Moussaoui Keribii
Correo electrónico: mohammed.moussaoui@uab.cat

Uso de idiomas

Lengua vehicular mayoritaria: español (spa)
Algún grupo íntegramente en inglés: No
Algún grupo íntegramente en catalán: Sí
Algún grupo íntegramente en español: No

Prerequisitos

Se ha de estar cursando simultáneamente o haber cursado las asignaturas de teoría correspondientes a los contenidos de las prácticas de laboratorio.

Para poder asistir a las prácticas es necesario que el estudiante justifique haber superado las pruebas de bioseguridad y de seguridad que encontrará en el Campus Virtual y ser conocedor y aceptar las normas de funcionamiento de los laboratorios de la Facultad de Biociencias.

Se aconseja a los estudiantes revisar los contenidos teóricos sobre los que se basa esta asignatura

Objetivos y contextualización

La asignatura de Laboratorio Integrado V forma parte de un conjunto de seis asignaturas que se distribuyen a lo largo de los seis primeros semestres del Grado en Bioquímica.
El objetivo de estas asignaturas es la adquisición de competencias prácticas del estudiante.
Los contenidos se organizan en un orden creciente de complejidad, asociados a las necesidades y la adquisición de los contenidos teóricos.
Durante el Laboratorio Integrado V el estudiante adquiere competencias prácticas en los contenidos siguientes:
- DNA recombinante
- Inmunología
- Señalización celular
- Bioquímica Industrial
- Proteómica

Las prácticas en el laboratorio se centran en el aprendizaje de técnicas básicas específicas de cada campo y en las características propias de trabajo en el laboratorio.

Competencias

- Actuar con responsabilidad ética y con respeto por los derechos y deberes fundamentales, la diversidad y los valores democráticos.
- Actuar en el ámbito de conocimiento propio valorando el impacto social, económico y medioambiental.
- Aplicar las normas generales de seguridad y funcionamiento de un laboratorio y las normativas específicas para la manipulación de diferentes sistemas biológicos

- Aplicar las técnicas principales de utilización en sistemas biológicos: métodos de separación y caracterización de biomoléculas, cultivos celulares, técnicas de DNA y proteínas recombinantes, técnicas inmunológicas, técnicas de microscopia...
- Colaborar con otros compañeros de trabajo
- Diseñar experimentos y comprender las limitaciones de la aproximación experimental
- Diseñar y poner a punto protocolos de laboratorio, incluyendo aspectos de seguridad y salud
- Interpretar resultados experimentales e identificar elementos consistentes e inconsistentes
- Manejar bibliografía e interpretar la información de las principales bases de datos biológicos, así como saber usar las herramientas informáticas básicas
- Pensar de una forma integrada y abordar los problemas desde diferentes perspectivas
- Procesar células y tejidos para obtener preparaciones de orgánulos subcelulares purificados, caracterizándolos Bioquímica y estructuralmente

Resultados de aprendizaje

1. Actuar con responsabilidad ética y con respeto por los derechos y deberes fundamentales, la diversidad y los valores democráticos.
2. Actuar en el ámbito de conocimiento propio valorando el impacto social, económico y medioambiental.
3. Aplicar de la metodología de fraccionamiento subcelular
4. Caracterizar con técnicas especificas la fisiología de los diferentes órganos y de los diferentes estados metabólicos de un organismo
5. Colaborar con otros compañeros de trabajo
6. Demostrar una visión crítica en el seguimiento e interpretación de protocolos experimentales
7. Diseñar experimentos y comprender las limitaciones de la aproximación experimental
8. Evaluar los datos experimentales en relación con los valores publicados en la literatura científica
9. Identificar los sistemas celulares útiles en estudios de bioquímica y biología molecular
10. Interpretar resultados experimentales e identificar elementos consistentes e inconsistentes
11. Pensar de una forma integrada y abordar los problemas desde diferentes perspectivas
12. Utilizar la metodología adecuada para el estudio de los diferentes tipos de muestras biológicas
13. Utilizar las diferentes herramientas informáticas para conocer las propiedades y las estructuras de proteínas
14. Utilizar las herramientas informáticas para la comparación de secuencias y para el cálculo de parámetros cinéticos
15. Utilizar las técnicas básicas de análisis de actividad enzimática
16. Utilizar las técnicas básicas de manipulación y análisis de proteínas y ácidos nucleicos
17. Utilizar los métodos de eliminación de los diferentes tipos de productos de desecho originados en un laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular
18. Utilizar técnicas inmunológicas para la detección, identificación y cuantificación de compuestos antigénicos
19. Utilizar técnicas inmunológicas para la localización celular y tisular de biomoléculas

Contenido

- Módulo de ADN recombinante y proteómica: 8 sesiones de 4 horas

  A) Diseño de cebadores y PCR.

  B) Purificación y digestión del producto de PCR. Inserción por ligación en un vector de expresión y transformación de células competentes de *E. coli*.

  C) Extracción por Minipreparación de DNA plasmídico y análisis por electroforesis de los productos de la digestión del producto de clonaje.

  D) Obtención del extracto celular y purificación de la proteína DHFR con una columna de afinidad a histidinas.

  E) Electroforesis PAGE-SDS. Determinación de la cantidad de proteína y de las actividades

enzimáticas. Evaluación con cálculos del rendimiento y el factor de purificación del proceso de purificación.

F) Visita al servicio de proteómica. Caracterización de la DHFR purificada por espectrometría de masas. Análisis y secuenciación de los péptidos purificados por espectrometría de masas a través de la técnica MS / MS e identificación de proteínas desconocidas presentes en la muestra mediante peptide mass fingerprinting. Uso de bases de datos y programas de búsqueda de similitudes.

G) Obtención de cristales de lisozima mediante el método de gota colgante. Visualización y manipulación de cristales obtenidos.

I) Presentación oral de los resultados obtenidos y preguntas.

- Módulo de Bioquímica Bioquímica: 2 sesiones de 4 horas

  A) Aprendizaje de la operación y las principales características de un biorreactor.

  B) Aplicación de este conocimiento en el proceso de expresión biorreactor de la proteína DHFR en *E. coli*.

  C) Seguimiento del crecimiento del cultivo en el fermentador.

- Módulo de Inmunología: 3 sesiones de 4 horas

  A) Separación de esplenòcitos y recuento de células.

  B) Precipitación de Igs y diálisis humanas. Cuantificación de Igs en suero humano (ELISA)

  C) Análisis del nivel funcional del complemento en una muestra de suero humano. Cálculo del CH50

Metodología

Consideraciones generales
La asignatura se impartirá en el laboratorio en grupos reducidos de alumnos.
Los estudiantes dispondrán de un Manual de Prácticas antes del inicio de las sesiones prácticas y en su caso de un cuestionario que encontrarán disponible en el Campus Virtual.
En cada sesión de prácticas es obligatorio que el alumno / a lleve: su propia bata, gafas de laboratorio y el Manual de Prácticas. También hay que llevar una libreta, donde cada alumno / a anotará las observaciones realizadas y un rotulador permanente.
Para la realización de las prácticas los alumnos trabajarán en grupos de dos y bajo la supervisión del profesor responsable, en el módulo de bioquímica industrial el número de alumnos por grupo Depedro del número de fermentadores disponibles.
Para conseguir un buen rendimiento y adquirir las competencias correspondientes a esta asignatura es imprescindible que el estudiante haga una lectura comprensiva del Manual de Prácticas, familiarizándose con las prácticas que llevará a cabo en cada sesión así como con la metodología que deberá Applicant en cada caso. Al inicio de cada sesión el profesor hará una breve explicación teórica del contenido de la práctica y de las experiencias a realizar por parte de los alumnos.
Para poder adquirir las competencias específicas de la asignatura la asistencia a las clases prácticas es obligatoria. En caso de que un alumno por causa justificada e imprevisible, no asista a una / sesión / sesiones de prácticas, deberá comunicarle al profesor responsable de la asignatura y presentar el justificante correspondiente lo antes posible. Se entiende por causa justificada problemas de salud (se deberá adjuntar el correspondiente justificante médico) o problemas personales graves

El profesorado destinará aproximadamente unos 15 minutos de alguna clase a permitir que su alumnado pueda responder las encuestas de evaluación de la actuación docente y de evaluación de la asignatura o módulo.

Nota: se reservarán 15 minutos de una clase dentro del calendario establecido por el centro o por la titulación para que el alumnado rellene las encuestas de evaluación de la actuación del profesorado y de evaluación de la asignatura o módulo.

Actividades

Título	Horas	ECTS	Resultados de aprendizaje
Tipo: Dirigidas			
Clases de prácticas de laboratorio	52	2,08	8, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 17, 12, 13, 15, 16, 18, 19
Tipo: Supervisadas			
Tutorías	3	0,12	8, 6, 7, 10
Tipo: Autónomas			
Estudiar	6,5	0,26	8, 5, 6, 7, 10, 11
Realización de trabajos, cuestionarios y presentación oral	12,5	0,5	8, 5, 6, 7, 10, 11

Evaluación

consideraciones generales
Dado que la asistencia a las actividades programadas en esta asignatura es obligatoria, la ausencia a alguna de ellas debe ser justificada. para poder superar la asignatura se requiere una asistencia global de al menos el 80% de las sesiones programadas y obtener la calificación mínima fijada para cada módulo.
Se considerará que un estudiante obtiene la calificación de No evaluable cuando ha asistido a menos de un 20% de las sesiones programadas.
Los alumnos que no obtengan la calificación mínima requerida para poder superar cada uno de los módulos del laboratorio integrado, no aprobarán la asignatura. En este caso, la calificación final mínima de la asignatura será un 4.
En caso de que el Laboratorio Integrado esté diferenciado en módulos, a partir de la segunda matrícula, los alumnos repetidores sólo tendrán que evaluar los módulos concretos que no han sido superados.
Esta exención se mantendrá por un periodo de dos matrículas adicionales.
La evaluación final de la asignatura se obtendrá de la media ponderada de la evaluación de los diferentes módulos:
- Módulo de DNA recombinante y proteómica (61.6%)
- Módulo de Bioquímica de Biorreactores (15.4%)
- Módulo de Inmunología (23.%)
Módulo de DNA recombinante y proteómica (61.5%)
Se tendrán en cuenta dos aspectos diferenciados:
* Evaluación de la presentación oral (40%)
Una presentación oral de los resultados obtenidos a lo largo de las prácticas y de un turno de preguntas por parte del profesor sobre los resultados presentados.
* Evaluación de trabajos y cálculos solicitados por el profesor (11,6%)
La presentación oral irá acompañada con la entregaprevia de un trabajo que recoja los del cálculos y gráficas de la parte de la práctica que requiere cálculos. La nota correspondiente al trabajo será la misma para ambos alumnos que han formado pareja durante el trabajo en el laboratorio.
La nota correspondiente a este módulo contempla de manera global la presentación oral y el trabajo de apoyo a la presentación. En la evaluación podemos distinguir una parte de la nota que será común para ambos alumnos que han formado pareja y que incluirá el trabajo de apoyo a la presentación así como la valoración de la presentación oral (como se ha organizado la presentación oral, cálculos incorporados, estética de la presentación, etc ...). Y por otro lado, habrá una parte de la nota que es individual y que se obtendrá de la

valoración por parte del profesor de la actitud del alumno en el laboratorio y de cómo se ha llevado a cabo por parte de la alumno la presentación de los resultados y también la defensa de los resultados en el turno de preguntas.
Se destinará una sesión de prácticas en las presentaciones orales de los resultados de todos los grupos, que se hará una vez finalizadas el resto de sesiones de prácticas (véase el calendario del módulo).
* Actitud y seguimiento del trabajo en el laboratorio (10%)
Módulo de Bioquímica Industrial (15.4%)
* Entrega de trabajos o pruebas escritas (11,15%)
El profesor podrá realizar pruebas escritas o pedir entrega de trabajos
* Actitud y Seguimiento del trabajo en el laboratorio (4,25%)
La actitud del alumno en el laboratorio. Se evaluará la puntualidad, llevar el material adecuado como bata, gafas deprotecció y guión de prácticas, previamente trabajado en casa por el alumno, así como su trabajo en el laboratorio.
Módulo de Inmunología (23.%)
Se tendrán en cuenta los siguientes aspectos:
* Entrega de trabajos o pruebas escritas (17,25%)
* Actitud y seguimiento del trabajo en el laboratorio (5,75%)

Actividades de evaluación

Título	Peso	Horas	ECTS	Resultados de aprendizaje
Evaluación de la presentación oral de los resultados (modulo de DNA recombinante y proteómica)	40%	0	0	3, 8, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 17, 13, 14, 15, 16, 18
Redacción de trabajos i cálculos (DNA recombinante)	11,6	0,5	0,02	8, 5, 6, 7, 10, 11, 14, 15
Redacción de trabajos o pruebas escritas (modulo inmunología)	17.25%	0	0	5, 6, 7, 12, 18, 19
Seguimiento del trabajo en el laboratorio y actitud (Inmuno)	5,75%	0	0	1, 2, 8, 5, 6, 7, 10, 11, 17, 12
Seguimiento del trabajo en el laboratorio y actitud (TDR)	10%	0	0	1, 2, 8, 5, 6, 7, 10, 11, 17, 12
Seguimiento del trabajo en el laboratorio y actitud (modulo de Bioreactores)	4,25%	0	0	1, 2, 8, 5, 6, 7, 10, 11, 17, 12
redacción de cuestionarios o trabajos (modulo de Bioreactores)	11,15%	0,5	0,02	8, 5, 6, 7, 10, 11

Bibliografía

BIBLIOGRAFÍA

* DNA RECOMBINANTE

- Hannig, G.; Makrides, S. (1998). «Strategies for optimizing heterologous protein expression in Escherichia coli». *Trends in Biotechnology* 16 (2): 54-60.

- Russell, David W.; Sambrook, Joseph (2001). *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor, N.Y: Cold Spring Harbor Laboratory.

- Watson, James D. (2007). *Recombinant DNA: Genes and Genomes: A Short Course*. San Francisco: W.H. Freeman.

- Berg, Jeremy Mark; Tymoczko, John L.; Stryer, Lubert (2010). *Biochemistry, 7th ed. (Biochemistry (Berg))*. W.H. Freeman & Company.

- Calladine, C. R. and Drew, H. R. (1997).Gene cloning - an introduction, 4th edition. Blackwell Science, Oxford,UK.

- Lewin, B. (2000). Molecular biotechnology: principles and Applications of recombinant DNA, 2nd edition. American Society for Microbiology, USA.

- Glazer, AN, H Nikaido. 2007. Microbial Biotechnology: Fundamentals of Applied Microbiology. 2ond edition. Cambridge University Press. ISBN: 9780521842105 (cart.)

* FERMENTADORES

- Doran, P.M. "Principios de ingeniería de los bioprocesos", 1998, Editorial Acribia, Zaragoza.

- Doran, P.M. "Bioprocess engineering principles", 1995, Academic Press, London.

- Gòdia, F., López, J. "Ingeniería Bioquímica", 1998, Editorial Síntesis, Madrid.

- Van't Riet, Tramper, J. "Basic Bioreactor Design", 1991, Marcel Dekker, New York.

- Blanch, H.W., Clark, D.S. "Biochemical Engineering", 1996, Marcel Dekker, New York.

- Bailey, J.E., Ollis, D.F. "Biochemical Engineering Fundamentals", 2ª Ed., 1986, McGraw Hill Book Company, New York.

Software

No se utilizará ningun programa informático específico en esta asignatura