

**FITXA IDENTIFICATIVA****DADES DE L'ASSIGNATURA****Codi:** 36882**Nom:** Mètodes en Bioquímica i Biologia Molecular II**Cicle:** Grau**Crèdits ECTS:** 7,5**Curs acadèmic:** 2025-26**TITULACIONS**

Titulació	Centre	Curs	Període
1111 - Grau en Biotecnologia	Facultat de Ciències Biològiques	2	Segon quadrimestre

MATÈRIES

Titulació	Matèria	Caràcter
1111 - Grau en Biotecnologia	Metodologia Bioquímica	OBLIGATÒRIA

COORDINACIÓ

MARIN NAVARRO JULIA VICTORIA

SENDRA PEREZ RAMON

GARCIA MURRIA MARIA JESUS

RESUM

El desenvolupament dels mètodes separatius, per a l'aïllament i purificació i també per a la caracterització de biomolècules en Bioquímica i Biologia Molecular ha tingut, i continuarà tenint, un gran impacte en el desenvolupament de la Biotecnologia. Aquesta assignatura respon a la necessitat de desenvolupar eines i habilitats específiques en una disciplina científica experimental com és la Biotecnologia. L'assignatura pertany, juntament amb Mètodes en Bioquímica i Biologia Molecular I, a la matèria Metodologia Bioquímica i totes dues assignatures introdueixen als estudiants en els fonaments i aplicacions de les metodologies bàsiques d'anàlisi, caracterització i separació de biomolècules i diferents agrupacions o associacions d'aquestes. En particular, el programa de Mètodes en Bioquímica i Biologia Molecular II s'ha dissenyat per al segon curs del grau en Biotecnologia, després de la impartició de Mètodes I en el primer quadrimestre del mateix curs, i es tracta d'una proposta no definitiva, perquè l'emergència de noves tècniques o l'actualització de les ja existents suggerisca que han de ser incorporades al programa. Cada tema abasta una tècnica o conjunt de tècniques relacionades per a la separació, purificació i aïllament de biomolècules i/o associacions de components biomoleculars. El desenvolupament dels



continguts dels temes inclou una introducció dels fonaments del mètode o conjunt de procediments, així com la discussió de la seua utilització experimental i possibles aplicacions. Es descriuran múltiples exemples d'aplicacions.

CONEXEMENTS PREVIS

RELACIÓ AMB ALTRES ASSIGNATURES DE LA MATEIXA TITULACIÓ

No s'ha especificat restriccions de matrícula amb altres assignatures del pla d'estudis.

ALTRES TIPUS DE REQUISITS

COMPETÈNCIES / RESULTATS D' APRENTATGE

-

Actuar con autonomía en el aprendizaje, tomando decisiones fundamentadas en diferentes contextos, emitiendo juicios en base a la experimentación y el análisis y transfiriendo el conocimiento a nuevas situaciones

Adquirir conocimientos de los fundamentos físico-químicos y las bases metodológicas de las técnicas utilizadas en estudios moleculares

Capacitat d'anàlisi, síntesi i raonament crític en l'aplicació del mètode científic.

Capacitat per a formar part d'equips multidisciplinaris, per al treball en equip i la cooperació.

Capacitat per a treballar en el laboratori incloent seguretat, manipulació, eliminació de residus i registre anotat d'activitats.

Colaborar eficazmente en equipos de trabajo, asumiendo responsabilidades y funciones de liderazgo y contribuyendo a la mejora y desarrollo colectivo

Comprender protocolos de separación, caracterización y análisis de moléculas biológicas

Contribuir en el diseño, desarrollo y ejecución de soluciones que den respuesta a demandas sociales, teniendo en cuenta como referente los Objetivos de Desarrollo Sostenible

Demostrar razonamiento crítico y autocrítico en el ámbito de la titulación, considerando aspectos tales como la ética profesional, los valores morales y las implicaciones sociales de las diferentes actividades realizadas

Diseñar protocolos de separación, purificación y caracterización de moléculas biológicas

Manejar adecuadamente los equipos y el material propio de un laboratorio de bioquímica y biología molecular

Proposar solucions creatives i innovadores a situacions o problemes complexos, propis de l'àmbit de



coneixement, per a donar resposta a les diverses necessitats professionals i socials

Saber comunicar-se de manera efectiva, tanto de forma oral como escrita, adaptándose a las características de la situación y de la audiencia

Saber dissenyar i executar un protocol complet d'obtenció i purificació d'un producte biotecnològic.

Saber usar la llengua anglesa en la redacció d'informes i per a interpretar la informació a partir de protocols, manuals i bases de dades.

DESCRIPCIÓ DE CONTINGUTS

Tema 1. Propietats i caracterització de biomolècules

L'estudi dels fenòmens vitals. Experiments in vivo i in vitro. Extracció i purificació de molècules biològiques. Desorganització de la matèria viva. Homogeneització total i limitada. Aïllament i Purificació de macromolècules. Separacions preliminars. Precipitació i diàlisi. Mètodes de separació preparatius i analítics. Resolució, rendiment i grau de purificació.

Tema 2. Centrifugació

Introducció: Fonament i definicions. Instrumentació: Centrífugues i rotors. Modalitats de centrifugació: Centrifugació diferencial. Centrifugació zonal. Centrifugació en gradient de densitat, procediments. Centrifugació isopícnica. Aplicacions de la centrifugació. Rotors especials preparatius. Ultracentrifugació analítica: Ultracentrífuges, rotors i cèl·lules de centrifugació analítica. Aplicacions: Determinació de coeficients de sedimentació i de masses moleculars.

Tema 3. Cromatografia

Introducció: definicions, generalitats, nomenclatura. Fonament i classificació dels mètodes cromatogràfics. Cromatografia sobre superfície plana: cromatografia en paper i en capa fina. Cromatografia en columna: fonament i operacions bàsiques. Paràmetres cromatogràfics. Capacitat i resolució: Selectivitat i Eficiència, concepte de plat teòric.

Cromatografia d'adsorció: Cromatografia d'intercanvi iònic, tipus i formes d'elució, cromatoenfocament; Cromatografia d'hidrofobicitat; Cromatografia d'afinitat, Preparació de la fase estacionària, modes d'elució; Cromatografia d'afinitat artificial, cromatografia sobre metalls immobilitzats-IMAC, cromatografia sobre colorants immobilitzats; Altres tipus de cromatografia d'adsorció, cromatografia sobre hidroxiapatit. Cromatografia d'exclusió molecular, fonament i aplicacions. Cromatografia líquida d'alta resolució-HPLC: Instrumentació; Fases estacionàries, tipus de columnes; HPLC de fase reversa HPLC-RP. Cromatografia sobre matrius magnètiques.

Tema 4. Electroforesi

Introducció: Fonament i definicions. Mètodes de tinció. Electroforesi lliure i electroforesi zonal. Electroforesi capil·lar. Electroforesi en suports no restrictius. Aplicacions.



Electroforesi de proteïnes en suports restrictius: Representació de Ferguson, Electroforesi en gels de poliacrilamida (PAGE), Electroforesi en sistema discontinu, Electroforesi en condicions desnaturalizants (SDS-PAGE), Electroforesi en gels de gradient de poliacrilamida (PAGGE). Electrotransferència i immunodetecció (Western-blot). Isoelectroenfocament i electroforesi bidimensional. Aplicacions.

Electroforesi d'àcids nucleics. Gels d'agarosa. Transferència a membranes. Aplicacions.

Tema 5 Espectroscopia de masses de Biomolècules

Introducció. L'espectròmetre de masses: modes de ionització; analitzadors de masses; mètodes de fragmentació. Espectres de Masses: intensitat; relació massa/carrega; resolució; variabilitat isotòpica i càlcul de la massa d'un ió. Aplicacions Bioquímiques: Proteòmica i Metabolòmica: identificació, quantificació i mètodes d'adquisició.

6. Pràctiques de Laboratori

Realització d'una pràctica a desenvolupar en 5 sessions de 4 hores, al llarg d'una mateixa setmana (pràctica intensiva).

Pràctica: Purificació i anàlisi de la ribulosa-1,5-bisfosfat carboxilasa oxigenasa (RubisCO) de fulles de taronger. Es partirà del teixit vegetal i després de realitzar l'extracció de les proteïnes totals s'iniciaran passos successius de purificació de RubisCO utilitzant precipitació diferencial, centrifugació, diàlisi i cromatografia d'intercanvi iònic. Es prendran alíquotes al llarg de tot el procés de purificació per a la seua posterior anàlisi mitjançant quantificació espectrofotomètrica de les proteïnes totals i electroforesis en gel de poliacrilamida desnaturalitzant amb SDS (SDS-PAGE). Finalment, es durà a terme l'anàlisi d'imatge del gel de poliacrilamida per a calcular el rendiment i factor de purificació al llarg del procés de purificació. Així mateix, s'analitzarà la massa molecular de les dues subunitats que componen l'enzim i s'estimarà la relació estequiomètrica d'aquestes.

VOLUM DE TREBALL (HORES)

ACTIVITATS PRESENCIALS

Activitat	Hores
Teoria	40,00
Pràctiques a l'aula	15,00
Laboratori	20,00
Total hores	75,00

ACTIVITATS NO PRESENCIALS

Activitat	Hores
Assistència a altres activitats	0,00
Elaboració de treballs individuals o en grup	0,00
Estudi i treball autònom	40,00
Preparació de classes	55,00
Preparació d'activitats d'avaluació	17,50
Resolució de casos pràctics	0,00
Total hores	112,50



METODOLOGIA DOCENT

Classes de teoria: L'assignatura està plantejada per a potenciar l'aprenentatge actiu dels estudiants. Així, les classes teòriques es conceben com a introduccions a cada tema, presentant els continguts més rellevants emprant principalment mitjans audiovisuals, i on es descriuran les tècniques d'investigació i s'intentarà donar una visió global i interrelacionada d'aquestes.

Prèviament a les classes teòriques els estudiants disposaran d'informació bibliogràfica i de material proporcionat pel professor i publicat en Aula Virtual. Es pretén que en aquestes classes hi haja una participació activa per part dels alumnes. Es fomentarà aquesta participació a través de la resolució de qüestions. El professor podrà sol·licitar el lliurament de qüestions resoltes. Aquesta activitat permetrà conèixer com els alumnes assimilen els conceptes i així avaluar millor el treball de l'estudiant.

Classes de problemes. Les classes de problemes es plantejaran de manera que els estudiants resolguen part dels mateixos a l'aula sota la supervisió del professor i treballant a vegades en equip amb altres companys. Els estudiants disposaran des del començament del curs de llistats de problemes proposats relacionats amb els diferents temes del programa. També es podrà dur a terme la discussió d'articles científics, on els alumnes, juntament amb el professor comentaran un article d'investigació, proposat pel professor, relacionat amb els temes el programa. A continuació, es resoldran una sèrie de qüestions sobre els objectius, metodologia, resultats i conclusions del treball de recerca.

Sessions pràctiques de laboratori: Prèviament a les classes pràctiques els estudiants disposaran d'informació bibliogràfica i de material a través de l'Aula Virtual. El professor proporcionarà a l'alumne un quadernet/guia que contindrà no sols els protocols a seguir sinó també referències bibliogràfiques i unes qüestions d'autoavaluació per a resoldre al llarg de les pràctiques. Això assegurarà que els estudiants posseeixen uns coneixements bàsics per a la realització i aprofitament de les tasques pràctiques.

Les sessions pràctiques es plantejaran de manera que els estudiants participen en la realització dels experiments, incloent-hi el desenvolupament de la pràctica, l'obtenció de dades i el procés d'elaboració i interpretació dels resultats per a proporcionar finalment unes conclusions de l'experiment. Tot això en el laboratori docent i sota la supervisió del professor i treballant en equip amb els companys. En finalitzar les pràctiques, els alumnes resoldran i presentaran un "qüestionari de resultats", amb els resultats obtinguts i les conclusions extretes, per a posar de manifest també la seua capacitat de formalitzar i comunicar dades científiques.

AVALUACIÓ

Es realitzarà una prova escrita sobre els continguts (teoria, problemes i pràctiques) del programa de l'assignatura que determinarà el 80% de la qualificació de l'assignatura. Aquest examen haurà de ser superat (nota de 5 sobre 10) per a poder aprovar l'assignatura.

L'avaluació de les pràctiques de laboratori representarà el 15% de la nota final de l'assignatura i s'obté mitjançant el seguiment individualitzat de les activitats de l'estudiant, a través de l'elaboració de qüestionaris i la seua participació activa en classe. L'assistència a totes les sessions de laboratori és indispensable perquè es pugui avaluar aquesta part de l'assignatura.



La qualificació final de l'assignatura tindrà en compte la participació de l'estudiant en les classes (un 5% de la nota).

Per a superar l'assignatura serà necessari haver obtingut una qualificació global igual o superior a 5 sobre 10, havent aprovat cadascuna de les parts: proves escrites i pràctiques de laboratori. Les qualificacions de laboratori i participació en les classes s'afegiran una vegada superats els exàmens escrits.

Avaluació de la segona convocatòria. Se seguiran els mateixos criteris d'avaluació que s'han exposat per a la primera convocatòria i consistirà en un examen únic sobre tots els continguts de l'assignatura (80%), incorporant la qualificació de les pràctiques de laboratori (15%) i participació en classes (5%).

En cas que s'aproven les pràctiques de laboratori, però no l'assignatura en el seu conjunt, la qualificació de pràctiques es mantindrà per al curs següent.

BIBLIOGRAFIA

Bàsica

- Barceló, F. (2003) Técnicas Instrumentales en Bioquímica y Biología. Colección materiales didácticos. Ed. Universitat de Les Illes Balears.
- Bodega, G. (Coord.) (2015) Métodos en Biociencias. Dextra Editorial.
- Cooper, T.G. (1984) Instrumentos y técnicas de bioquímica. Ed. Reverté, 1984
- Fanali, S., Chankvetadze, B., Haddad, P.R., Poole, C. i Riekkol, M.-L. (2003) Eds. Liquid Chromatography Fundamentals and Instrumentation. 3ª Edición. Elsevier Inc.
- Freifelder, D. (1979) Técnicas de bioquímica y biología molecular Ed. Reverté.
- García Segura, J.M., Gavilanes, J.G., Martínez del Pozo, A., Montero, F., Oñaderra, M. i Vivanco, F. (1996) Técnicas instrumentales de análisis en Bioquímica. Ed. Síntesis.
- Holme, D.J. i Peck, H. (1998) Analytical Biochemistry 3th edition. Ed. Prentice Hall.
- Mark F. Vitha, M.F. (2017) Chromatography: Principles and Instrumentation. John Wiley & Sons, Inc.
- Roca, P., Oliver, J. i Rodriguez, A.M. (2004) Bioquímica: técnicas y métodos Ed Hélice.
- Scopes, R.K. (1987) Protein purification 2a ed. Springer Verlag.
- Wilson, K. i John Walker, J. (2006) (Eds) Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology. Ed. Cambridge University Press.

Complementària

- Andersson, I. (2008): Catalysis and regulation in Rubisco, *J. Exp. Bot.*, 59, 1555-1568
- Andersson, I. i Backlund, A. (2008): Structure and function of Rubisco. *Plant Physiol. Biochem.* 46, 275-291.
- Atha, D. H. i Ingham, K.C. (1981): Mechanism of precipitation of proteins by polyethylene glycols. *J. Biol. Chem.*, 256, 12108-12117.
- Gutteridge, S. i Gatenby, A. A. (1995): RuBisCO synthesis, assembly, mechanism and regulation. *Plant Cell* 7, 809-819.
- Peñarrubia, L., Moreno, J. i Carrasco, P. (1988): A visual-electrophoretic method for following the purification of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase. *Biochem. Educ.*, 16, 234-236.
- Peñarrubia, L. i Moreno, J. (1988): Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase from citrus leaves. *Phytochemistry*, 27, 1999-2005.



- Schneider, G., Lindqvist, Y. i Brändén, C.I. (1992): RuBisCO: structure and mechanism. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 21, 119-143.
- Spreitzer, R.J. i Salvucci, M.E. (2002) Rubisco: Structure, Regulatory Interactions, and Possibilities for a Better Enzyme. *Annual Review Plant Biology*, 53, 449-475.