

**Proyecto/Guía docente de la asignatura**

Asignatura	Electroforesis, Western-blot y Purificación de Proteínas		
Materia	Materia 3. Aplicaciones moleculares en investigación Biomédica		
Módulo	Módulo II: Investigación Biomédica básica		
Titulación	Máster en Investigación Biomédica y Terapias Avanzadas		
Plan	725	Código	55412
Periodo de impartición	Primer Cuatrimestre	Tipo/Carácter	Optativa
Nivel/Ciclo	Posgrado	Curso	2024-2025
Créditos ECTS	3 ECTS		
Lengua en que se imparte	Castellano		
Profesor/es responsable/s	Lucia Citores González M ^a Nieves Fernández García José Miguel Ferreras Rodríguez Marita Hernández Garrido Rosario Iglesias Álvarez Asunción Rocher Martín	Profesora Titular Profesora Titular y COORDINADORA Catedrático Profesora Contratada Doctora Profesora Titular Catedrática	
Datos de contacto (E-mail, teléfono...)	Lucia Citores González M ^a Nieves Fernández García José Miguel Ferreras Rodríguez Marita Hernández Garrido Rosario Iglesias Álvarez Asunción Rocher Martín	Ext 5856 - lucia.citores@uva.es Ext 4835 - nieves.fernandez@uva.es Ext 3083 - josemiguel.ferreras@uva.es Ext 3088 - maritahg@uva.es Ext 5857 - riglesias@uva.es Ext 4122- asun.rocher@uva.es	
Departamento	Bioquímica y Biología Molecular y Fisiología/IBGM		
Fecha de revisión por el Comité de Título	16 de julio de 2024		



1. Situación / Sentido de la Asignatura

1.1 Contextualización

Las proteínas son las macromoléculas biológicas más abundantes y están presentes en todas las partes de la célula, le proporcionan forma y estructura y llevan a cabo la mayor parte de sus muchas funciones. El manejo de técnicas de aislamiento y caracterización de proteínas constituye por tanto una herramienta imprescindible en la investigación biomédica. Se pretende que el alumno adquiera una formación conceptual y práctica en las materias y metodologías actuales, para ser capaz de realizar experimentos y/o diseñar aplicaciones de forma independiente y describir, cuantificar, analizar y evaluar críticamente los resultados obtenidos.

1.2 Relación con otras materias

Dado que las proteínas son las responsables de llevar a cabo las funciones celulares, esta asignatura está íntimamente relacionada con todas las asignaturas que se imparten en el máster. Esta asignatura complementa una asignatura teórica (Estructura y función de proteínas y proteómica).

1.3 Prerrequisitos

El acceso y admisión se realiza conforme a lo descrito en el Artículo 18. Acceso y admisión a las enseñanzas universitarias oficiales de Máster Universitario del Real Decreto 822/2021, de 28 de septiembre, por el que se establece la organización de las enseñanzas universitarias y del procedimiento de aseguramiento de su calidad. Se puede consultar esta y otra documentación relacionada en el siguiente enlace:

<https://www.uva.es/export/sites/uva/2.estudios/2.04.master/2.03.02.acceso/index.html>



2. Competencias (RD 1393/2007) o Resultados del proceso de formación y de aprendizaje (RD 822/2021)

Para los planes de estudio al amparo del RD 1393/2007 deben completarse las Competencias Generales y las Competencias Específicas.

Para los planes de estudio al amparo del RD 822/2021 deben completarse conocimientos o contenidos, habilidades o destrezas y las competencias.

2.1 (RD822/2021) Conocimientos o contenidos

“Técnicas de investigación en proteínas”

1. Extracción de proteínas de tejidos vegetales.
2. Preparación columnas de cromatografía de afinidad, intercambio iónico y exclusión molecular.
3. Purificación de proteínas mediante cromatografía.
4. Detección de las proteínas purificadas mediante electroforesis.
5. Ensayo de la actividad de las proteínas purificadas: actividad lectina, inhibición de la síntesis de proteínas en lisado de eritrocitos de conejo, y toxicidad en cultivos celulares.

“Electroforesis de proteínas y *western-blot*”

En este curso, tras una introducción teórica en la que se explican los fundamentos del método, su ejecución y sus aplicaciones, el alumno recibirá una demostración práctica de todo el proceso y posteriormente llevará a cabo, bien de forma individual o en pareja, los siguientes pasos:

1. Lisis con detergentes de células tratadas con diferentes estímulos, obtención de extractos celulares.
2. Cuantificación de la proteína total mediante métodos colorimétricos.
3. Preparación de geles de electroforesis SDS-PAGE. Carga de los extractos en los geles. Desarrollo de la electroforesis.
4. Tinción de las proteínas en el gel por Coomassie o Plata.
5. Transferencia de las proteínas del gel a membrana de nitrocelulosa (electrotransferencia) y posterior inmunodetección con anticuerpos específicos.
6. Análisis de los resultados obtenidos.

2.2 (RD822/2021) Habilidades o destrezas

Resultados de aprendizaje específicos de la materia

Los/as estudiantes serán capaces de:

- Explicar los fundamentos teóricos y las aplicaciones más importantes de la proteómica. Identificar el potencial que tiene la proteómica para contribuir a la comprensión del funcionamiento de los sistemas biológicos complejos.
- Reconocer el instrumental de las técnicas más utilizadas como herramienta en la proteómica, que es la electroforesis de proteínas e inmunodetección (*western-blot*).
- Purificar proteínas a partir de tejidos Utilizar los distintos métodos de purificación de proteínas mediante cromatografía en gel. Utilizar métodos para cuantificar la actividad de las proteínas purificadas.
- Desarrollar habilidad práctica en el laboratorio de Biomedicina y ser capaz de seguir un protocolo experimental de forma autónoma.
- Ser capaz de diseñar experimentos en el campo de la investigación biomédica básica, aplicando las técnicas adecuadas para responder a la pregunta pertinente.



2.3 (RD822/2021) Competencias

RA22.- Identificar las técnicas de biología molecular en la biomedicina aplicada, con especial atención a aquellas técnicas relacionadas con el diagnóstico, seguimiento y terapia de enfermedades humanas.

RA23.- Diseñar experimentos en el campo de la investigación biomédica, aplicando las técnicas adecuadas para responder a la pregunta pertinente.

RA24.- Informar, tanto oralmente como por escrito, sobre problemas/proyectos biomédicos.

Competencias Transversales:

RA26- Ser capaz de trabajar en equipo en un ambiente multidisciplinar para conseguir objetivos comunes desde perspectivas diferenciadas.

RA27- Ser capaz de aplicar los principios de la ética, la integridad intelectual y la responsabilidad profesional.





3. Objetivos

Se pretende que el alumno llegue a:

1. Conocer el potencial que tiene la proteómica para contribuir a la comprensión del funcionamiento de los sistemas biológicos complejos.
2. Conocer la estrategia clásica a seguir en proteómica, separando y cuantificando las proteínas de una muestra por electroforesis bidimensional o cromatografía multidimensional, para posteriormente identificar cada una de las proteínas mediante espectrometría de masas.
3. Familiarizarse a nivel instrumental con una de las técnicas más utilizadas como herramienta en la proteómica, que es la electroforesis de proteínas e inmunodetección (western-blot).





4. Contenidos y/o bloques temáticos

Bloque 1: "Técnicas de investigación en proteínas"

Carga de trabajo en créditos ECTS: 1,5

a. Contextualización y justificación

Las proteínas son las macromoléculas biológicas más abundantes y están presentes en todas las partes de la célula, le proporcionan forma y estructura y llevan a cabo la mayor parte de sus muchas funciones. El manejo de técnicas de aislamiento y caracterización de proteínas constituye por tanto una herramienta imprescindible en la investigación biomédica.

b. Objetivos de aprendizaje

Utilizar bancos de datos de proteínas y herramientas para comparar la estructura primaria de las proteínas. Describir las estructuras secundarias y supersecundarias más importantes de las proteínas globulares. Distinguir las estructuras terciarias y cuaternarias más importantes de las proteínas globulares.

Utilizar bancos de datos de estructuras de proteínas. Utilizar herramientas para visualizar la estructura de las proteínas, modelar la estructura de las proteínas y para predecir la unión de proteínas a ligandos.

Purificar proteínas a partir de tejidos Utilizar los distintos métodos de purificación de proteínas mediante cromatografía en gel. Utilizar métodos para cuantificar la actividad de las proteínas purificadas.

c. Contenidos

1. Extracción de proteínas de tejidos vegetales.
2. Preparación columnas de cromatografía de afinidad, intercambio iónico y exclusión molecular.
3. Purificación de proteínas mediante cromatografía.
4. Detección de las proteínas purificadas mediante electroforesis.
5. Ensayo de la actividad de las proteínas purificadas: actividad lectina, inhibición de la síntesis de proteínas en lisado de eritrocitos de conejo, y toxicidad en cultivos celulares.

d. Métodos docentes

Sesiones en las que se realizarán las prácticas propuestas siguiendo un guión y con el apoyo del profesor. Discusiones interactivas sobre las técnicas utilizadas y los problemas encontrados. Los grupos de laboratorio serán de máximo 2-4 estudiantes.



e. Plan de trabajo

Se realizarán 4 sesiones de 3 ó 4 horas.

f. Evaluación

Evaluación continua: 55%

Realización de un trabajo o ejercicio de evaluación escrito: 45%

g Material docente

Es fundamental que las referencias suministradas este curso estén actualizadas y sean completas. El profesorado tiene acceso, a la **plataforma Leganto de la Biblioteca** para actualizar su bibliografía recomendada ("Listas de Lecturas"). Si ya lo ha hecho, puede poner tanto en la guía docente como en el Campus Virtual el enlace permanente a Leganto.

La Biblioteca se basa en la bibliografía recomendada en la Guía docente para adaptar su colección a las necesidades de docencia y aprendizaje de las titulaciones.

Si tiene que actualizar su bibliografía, el enlace es el siguiente, <https://buc-uva.alma.exlibrisgroup.com/leganto/login?auth=SAML> (acceso mediante tus claves UVa). Este enlace te envía a la página de autenticación del directorio UVa, el cual te redirige a Leganto. Una vez allí, aparecerán, por defecto, las listas de lectura correspondientes a las distintas asignaturas que imparte ("instructor" en la terminología de Leganto / Alma). Desde aquí podría añadir nuevos títulos a las listas existentes, crear secciones dentro de ellas o, por otra parte, crear nuevas listas de bibliografía recomendada.

Puede consultar las listas de lectura existentes mediante el buscador situado en el menú de arriba a la izquierda, opción "búsqueda de listas".

En la parte superior derecha de cada lista de lectura se encuentra un botón con el signo de omisión "○○○" (puntos suspensivos), a través del cual se despliega un menú que, entre otras opciones, permite "Crear un enlace compartible" que puede dirigir o bien a la lista de lectura concreta o bien al "Curso" (asignatura). Este enlace se puede indicar tanto en el apartado "g. Materiales docentes" (y subapartados) de la Guía Docente como en la sección de Bibliografía correspondiente a la asignatura en el Campus Virtual Uva.

Para resolver cualquier duda puede consultar con la biblioteca de tu centro. [Guía de Ayuda al profesor](#)

g.1 Bibliografía básica

Fundamentals of Protein Structure and Function. Second Edition. Engelbert Buxbaum. Springer, 2015. ISBN 978-3-319-19919-1 ISBN 978-3-319-19920-7 (eBook). DOI 10.1007/978-3-319-19920-7

g.2 Bibliografía complementaria

g.3 Otros recursos telemáticos (píldoras de conocimiento, blogs, videos, revistas digitales, cursos masivos (MOOC), ...)

Los alumnos dispondrán de toda la información asociada al curso (guía docente, contenidos, guión de prácticas, materiales adicionales, etc.).

h. Recursos necesarios

i. Temporalización

CARGA ECTS	PERIODO PREVISTO DE DESARROLLO
1,5	16 diciembre- 20 diciembre



Bloque 2: “Electroforesis de proteínas y western-blot”

Carga de trabajo en créditos ECTS: 1,5

a. Contextualización y justificación

Se pretende que el alumno adquiera una formación conceptual y práctica en las materias y metodologías actuales, para ser capaz de realizar experimentos y/o diseñar aplicaciones de forma independiente y describir, cuantificar, analizar y evaluar críticamente los resultados obtenidos

b. Objetivos de aprendizaje

Se pretende que el alumno llegue a:

1. Conocer el potencial que tiene la proteómica para contribuir a la comprensión del funcionamiento de los sistemas biológicos complejos.
2. Conocer la estrategia clásica a seguir en proteómica, separando y cuantificando las proteínas de una muestra por electroforesis bidimensional o cromatografía multidimensional, para posteriormente identificar cada una de las proteínas mediante espectrometría de masas.
3. Familiarizarse a nivel instrumental con una de las técnicas más utilizadas como herramienta en la proteómica, que es la electroforesis de proteínas e inmunodetección (western-blot).

c. Contenidos

En este curso, tras una introducción teórica en la que se explican los fundamentos del método, su ejecución y sus aplicaciones, el alumno recibirá una demostración práctica de todo el proceso y posteriormente llevará a cabo, bien de forma individual o en pareja, los siguientes pasos:

1. Lisis con detergentes de células tratadas con diferentes estímulos, obtención de extractos celulares.
2. Cuantificación de la proteína total mediante métodos colorimétricos.
3. Preparación de geles de electroforesis SDS-PAGE. Carga de los extractos en los geles. Desarrollo de la electroforesis.
4. Tinción de las proteínas en el gel por Coomassie o Plata.
5. Transferencia de las proteínas del gel a membrana de nitrocelulosa (electrotransferencia) y posterior inmunodetección con anticuerpos específicos.
6. Análisis de los resultados obtenidos.

d. Métodos docentes

Clase teórica: 2 horas

Se utilizará esta clase como medio para proporcionar a los alumnos los fundamentos teóricos del programa de la materia. Se impartirá de forma presencial utilizando presentaciones de PowerPoint como apoyo. Las dudas se resolverán de forma presencial, en la clase teórica y durante la práctica de laboratorio, además de mediante tutorías presenciales en grupo o individuales o a través de correo electrónico, con el fin de aclarar los conceptos y facilitar su aplicación práctica.

Prácticas de Laboratorio: 13 horas

Se impartirá una práctica presencial de laboratorio como demostración del proceso de una electroforesis y western-blot y posteriormente el alumno realizará de forma individual o en pareja todo el proceso experimental.

Serán clases presenciales. Los grupos de laboratorio serán de máximo 2-4 estudiantes.

Tutorías

De forma presencial, bien individual o en grupo en horario acordado con el alumno o a través del correo electrónico.

Evaluación

Actividades relacionadas con la evaluación.

e. Plan de trabajo



En este curso, tras una introducción teórica en la que se explican los fundamentos del método, su ejecución y sus aplicaciones, el alumno recibirá una demostración práctica de todo el proceso y posteriormente llevará a cabo, bien de forma individual o en pareja, los siguientes pasos:

1. Lisis con detergentes de células tratadas con diferentes estímulos, obtención de extractos celulares.
2. Cuantificación de la proteína total mediante métodos colorimétricos.
3. Preparación de geles de electroforesis SDS-PAGE. Carga de los extractos en los geles. Desarrollo de la electroforesis.
4. Tinción de las proteínas en el gel por Coomassie o Plata.
5. Transferencia de las proteínas del gel a membrana de nitrocelulosa (electrotransferencia) y posterior inmunodetección con anticuerpos específicos.
6. Análisis de los resultados obtenidos.

f. Evaluación

Evaluación continua: 55%

Realización de un trabajo o ejercicio de evaluación escrito: 45%

g. Material docente

Es fundamental que las referencias suministradas este curso estén actualizadas y sean completas. Los profesores tienen acceso, a la **plataforma Leganto de la Biblioteca** para actualizar su bibliografía recomendada ("Listas de Lecturas"). Si ya lo han hecho, pueden poner tanto en la guía docente como en el Campus Virtual el enlace permanente a Leganto.

La Biblioteca se basa en la bibliografía recomendada en la Guía docente para adaptar su colección a las necesidades de docencia y aprendizaje de las titulaciones.

Si tienes que actualizar tu bibliografía, el enlace es el siguiente, <https://buc-uva.alma.exlibrisgroup.com/leganto/login?auth=SAML> (acceso mediante tus claves UVa). Este enlace te envía a la página de autenticación del directorio UVa, el cual te redirige a Leganto. Una vez allí, aparecerán, por defecto, las listas de lectura correspondientes a las distintas asignaturas que impartes ("instructor" en la terminología de Leganto / Alma). Desde aquí podrías añadir nuevos títulos a las listas existentes, crear secciones dentro de ellas o, por otra parte, crear nuevas listas de bibliografía recomendada.

Puedes consultar las listas de lectura existentes mediante el buscador situado en el menú de arriba a la izquierda, opción "búsqueda de listas".

En la parte superior derecha de cada lista de lectura se encuentra un botón con el signo de omisión "○○○" (puntos suspensivos), a través del cual se despliega un menú que, entre otras opciones, permite "Crear un enlace compartible" que puede dirigir o bien a la lista de lectura concreta o bien al "Curso" (asignatura). Este enlace se puede indicar tanto en el apartado "g. Materiales docentes" (y subapartados) de la Guía Docente como en la sección de Bibliografía correspondiente a la asignatura en el Campus Virtual Uva.

Para resolver cualquier duda puedes consultar con la biblioteca de tu centro. [Guía de Ayuda al profesor](#)

g.1 Bibliografía básica

- Lieber D.C. Introduction to proteomics. Tools for the new biology. Humana Press Inc.2002.
- Simpson R.J. Proteins and proteomics. A laboratory manual.Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2003.
- Walker J.M. The protein protocols handbook. 2nd ed.Humana Press Inc. 2002.

g.2 Bibliografía complementaria

g.3 Otros recursos telemáticos (píldoras de conocimiento, blogs, videos, revistas digitales, cursos masivos (MOOC), ...)

h. Recursos necesarios

La clase teórica estará disponible vía Moodle en forma de presentación de PowerPoint.

i. Temporalización



CARGA ECTS	PERIODO PREVISTO DE DESARROLLO
1,5	Primer Cuatrimestre, 1 semana, 25- 29 noviembre en horario de mañana (4-5 h/día)

5. Métodos docentes y principios metodológicos

Clase teórica: 2 horas

En el bloque 2: se utilizará esta clase como medio para proporcionar a los alumnos los fundamentos teóricos del programa de la materia. Se impartirá de forma presencial utilizando presentaciones de PowerPoint como apoyo. Las dudas se resolverán de forma presencial, en la clase teórica y durante la práctica de laboratorio, además de mediante tutorías presenciales en grupo o individuales o a través de correo electrónico, con el fin de aclarar los conceptos y facilitar su aplicación práctica.

Prácticas de Laboratorio: 26 horas

En el bloque 1: Sesiones en las que se realizarán las prácticas propuestas siguiendo un guion y con el apoyo del profesor. Discusiones interactivas sobre las técnicas utilizadas y los problemas encontrados.

En el bloque 2: Se impartirá una práctica presencial de laboratorio como demostración del proceso de una electroforesis y western-blot y posteriormente el alumno realizará de forma individual o en pareja todo el proceso experimental.

Tutorías

De forma presencial, bien individual o en grupo en horario acordado con el alumno o a través del correo electrónico.

Evaluación

Actividades relacionadas con la evaluación.

6. Tabla de dedicación del estudiantado a la asignatura

ACTIVIDADES PRESENCIALES o PRESENCIALES A DISTANCIA ⁽¹⁾	HORAS	ACTIVIDADES NO PRESENCIALES	HORAS
Clases teóricas	2	Estudio y trabajo autónomo individual	42,5
Laboratorio	26	Estudio y trabajo grupal	2,5
Sesiones de evaluación y revisión	2		
Total presencial	30	Total no presencial	45
TOTAL presencial + no presencial			75

(1) Actividad presencial a distancia es cuando un grupo sigue una videoconferencia de forma sincrónica a la clase impartida por el profesor.



7. Sistema y características de la evaluación

INSTRUMENTO/PROCEDIMIENTO	PESO EN LA NOTA FINAL	OBSERVACIONES
Evaluación continua	55%	
Realización de un trabajo escrito	45%	

CRITERIOS DE CALIFICACIÓN
Convocatoria ordinaria: Evaluación continua: 55% Realización de un trabajo escrito: 45%
Convocatoria extraordinaria (*): Evaluación continua: 55% Realización de un trabajo escrito: 45%

(*) Se entiende por convocatoria extraordinaria la segunda convocatoria.

RECORDATORIO El estudiante debe poder puntuar sobre 10 en la convocatoria extraordinaria salvo en los casos especiales indicados en el Art 35.4 del ROA 35.4. “La participación en la convocatoria extraordinaria no quedará sujeta a la asistencia a clase ni a la presencia en pruebas anteriores, salvo en los casos de prácticas externas, laboratorios u otras actividades cuya evaluación no fuera posible sin la previa realización de las mencionadas pruebas.”

<https://secretariageneral.uva.es/wp-content/uploads/VII.2.-Reglamento-de-Ordenacion-Academica.pdf>

8. Consideraciones finales

