

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

PROGRAMAS DE ESTUDIO
OCTAVO O NOVENO
SEMESTRE

Asignatura BIOQUÍMICA EXPERIMENTAL	Ciclo TERMINAL Y DE PRE- ESPECIALIZACIÓN	Área BIOTECNOLOGÍA	Departamento BIOQUÍMICA
---	---	-------------------------------------	--

HORAS/SEMANA

OPTATIVA	Clave 0141	TEORÍA 0 h	PRÁCTICA 6 h	CRÉDITOS 6
-----------------	-------------------	-------------------	---------------------	-------------------

Tipo de asignatura:	PRÁCTICA
Modalidad de la asignatura:	LABORATORIO

ASIGNATURA PRECEDENTE: Ninguna.

ASIGNATURA SUBSECUENTE: Ninguna.

OBJETIVO(S):

Familiarizar al alumno con técnicas bioquímicas fundamentales utilizadas en la actualidad en laboratorios de Bioquímica en las áreas de investigación básica, clínica y de farmacia principalmente, así como promover su entrenamiento en sus aspectos prácticos. Proporcionar los elementos conceptuales y experimentales de materias relacionadas con la Bioquímica.

Propiciar en el alumno el desarrollo de habilidades como: participación activa y continua en las actividades de la materia, fomentar su capacidad de indagación, de análisis y de crítica.

UNIDADES TEMÁTICAS

NÚMERO DE HORAS POR UNIDAD	UNIDAD
12P 12h	1. INTRODUCCIÓN AL LABORATORIO DE BIOQUÍMICA (12 h) 1.1 Elaboración de hipótesis y objetivos. 1.2 Planteamiento experimental de un problema. 1.3 Diseño experimental. 1.4 Confrontación de los resultados con la hipótesis original. 1.5 Organización y análisis de los datos experimentales para la elaboración del Reporte Científico. 1.6. Revisión de métodos espectroscópicos para el análisis de biomoléculas.
24P 24h	2. ESTRUCTURA Y PROPIEDADES DE LAS PROTEÍNAS. (24 h) 2.1. Extracción de proteínas a partir de un tejido 2.2. Fraccionamiento celular. 2.3. Concentración de la fracción proteica (precipitación por salado). 2.4. Purificación de proteínas por métodos cromatográficos: cromatografía de exclusión molecular, cromatografía de intercambio iónico y cromatografía de afinidad 2.4. Métodos para monitorear el proceso de purificación de proteínas. Determinación de proteínas por métodos colorimétricos: Bradford. 2.5. Métodos para monitorear el proceso de purificación de proteínas. Electroforesis de proteínas en geles de poliacrilamida-SDS.

12P 12h	3. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA (12 h) 3.1 Variables a optimizar en un ensayo enzimático. 3.2 Métodos de punto final y cinético para cuantificar la actividad enzimática. 3.3 Regulación de la actividad enzimática: Efecto de concentración de sustrato y de un inhibidor.
30P 30h	4. ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS. (30 h) 4.1. Transferencia de material genético I. Conjugación 4.2. Transferencia de material genético II: Transformación 4.3. Extracción y cuantificación de DNA 4.4. Visualización de ácidos nucleicos por electroforesis horizontal en geles de agarosa. 4.4. Principios de Ingeniería Genética I: Enzimas de restricción 4.5. Principios de Ingeniería Genética II: Inducción y producción de proteína recombinante en bacterias.
18P 18h	5. REGULACIÓN DEL METABOLISMO. (18 h) 5.1. Regulación de la expresión genética en procariontes: Operón <i>lac</i> 5.2. Regulación del metabolismo en eucariontes: Regulación hormonal del metabolismo de glucosa

SUMA: 96P=96h

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

1. Bonner, P., Hargreaves, A. 2011. *Basic Bioscience Laboratory Techniques: A Pocket Guide*. Wiley.
2. Boyer, R.F. 2000. *Modern Experimental Biochemistry*. 3° Ed. Prentice Hall.
3. Brown, T.A. 2002. *Essential Molecular Biology: A Practical Approach*. Oxford University Press.
4. Carson, S., Miller, H., Witherow, S., 2011. *Molecular Biology Techniques. A Classroom Laboratory Manual*. 3° Ed. Academic Press.
5. Karp, G. 2007. *Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments*. Wiley.
6. Roe, S. 2005. *Protein Purification Techniques: A Practical Approach*. 2° Ed. Oxford University Press.

BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA

1. Sawhney, K., Singh, R. 2005. *Introductory Practical Biochemistry*. Alpha Science International.
2. Scopes, R.K. 1993. *Protein Purification: Principles and Practice*. Springer.
3. Simpson, R.J., Adams, P.D., Golemis, E.A. 2008. *Basic Methods in Protein Purification and Analysis: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
4. Watson, J.D., Gilman, M., Witkowsky, J. y Zoller, M., *Recombinant DNA*, New York, Scientific American Books. 1992.
5. Wilson, K., Walker, J. 2010. *Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology*. Cambridge University Press.

SUGERENCIAS DIDÁCTICAS

Sección 1. Objetivo principal que conozcan las partes de un reporte y aprendan a plantear hipótesis.

- A. Lectura de artículos para identificar las partes que componen a un reporte científico.
- B. Revisión de las partes que componen un cartel, como otra forma de informar sobre los avances de una investigación.
- C. Revisar un caso particular real de resolución de un problema usando el método científico, como ejemplo de cómo la observación y la búsqueda de información lleva a plantear hipótesis y cómo con la propuesta y diseño de los experimentos se deben adecuar para responder la hipótesis.
- D. Proporcionarles las gráficas y figuras de un artículo y pedirles que planteen que objetivos e hipótesis fueron las que persiguieron los investigadores y cuáles son las conclusiones a las que llegaron.

Sección 2. Objetivo principal conocer y proponer protocolos para purificar proteínas. En vista de que para lograr proponer un protocolo tienen que conocer las características de una proteína.

- A. Para conocer más características de la proteína a purificar, se les enseña a obtener las secuencias de genes o de proteínas del portal del National Center for Biotechnology Research y también a usar herramientas disponibles en internet para calcular propiedades como pI, PM, número de residuos cargados positivamente o negativamente, entre otras características.
- B. Realizar *in silico* la purificación de una proteína a partir de una mezcla de proteínas. Se les proporciona las propiedades fisicoquímicas de la proteína a purificar y herramientas experimentales de evaluación como son la electroforesis en primera, segunda dimensión y su tinción con un colorante específico para proteínas o bien por la realización de un Western-Blot y su seguimiento con un anticuerpo específico. El programa contiene ayudas sobre el fundamento de la técnica que se emplea y también indica cómo las soluciones o reactivos a usar pueden ayudar a purificar a la proteína. Las principales técnicas de purificación que contiene el programa son precipitación por salado, precipitación por calor, cromatografía de exclusión molecular, cromatografía de afinidad y la cromatografía de intercambio iónico.
- C. Se realizan ejercicios sobre mezclas de proteínas o moléculas para que los estudiantes propongan protocolos de purificación usando diversas técnicas cromatográficas.

Sección 3. Objetivo principal determinación de actividad enzimática y evaluar qué factores modifican su actividad.

- A. Se realizan ejercicios para aprender a calcular la actividad enzimática e identificar en gráficos que tipo de inhibición se produce en la enzima al adicionar algún inhibidor.
- B. Analizar gráficos en los que se presenta la actividad enzimática en diferentes unidades.
- C. Analizar artículos en los que se presenta un problema real sobre la inhibición enzimática y cómo se soluciona.
- D. Medición de la actividad de una enzima en la que se monitorea su reacción a través de un método colorimétrico y no por la de un producto solo visible a UV. Los ayuda a visualizar el progreso de la reacción.
- E. Determinar el efecto del pH y temperatura en la actividad enzimática, como ejemplo de otros factores adicionales a la concentración de enzima, concentración de sustrato y la presencia de inhibidor, factores que se revisan en el protocolo experimental.

Sección 4. Objetivo principal conocer y aplicar las técnicas de biología molecular básicas para manipular los ácidos nucleicos.

- A. Ejercicios sobre el mapeo de vectores usando la estrategia de las enzimas de restricción.
- B. Ejercicios para comparar diferentes vectores de expresión y cepas de bacterias que se usan para clonación de genes.
- C. Ejercicios de cálculos de concentración de ácidos nucleicos y sus posibles interferencias.
- D. Propuesta de protocolos para purificar a las proteínas recombinantes.
- E. Exposiciones de técnicas ampliamente usadas para transformación y para evaluar la presencia y expresión de un gen de interés.

Sección 5. Objetivo principal conocer las estrategias de modificación del metabolismo.

- A. Realizar un cartel en el que integren cómo la insulina modifica a los 4 tejidos examinados.

FORMA DE EVALUAR

Esta incluirá tres parámetros: Elaboración de reportes, realización de exámenes y participación individual en las discusiones que contribuirán con 40, 40 y 20 % respectivamente a la calificación final.

Los reportes serán por equipo, si bien la sección de discusión puede ser elaborada individualmente. Estos reportes deberán entregarse al final de cada sección. La elaboración de éstos deberá verse facilitada por el trabajo en las sesiones semanales de procesamiento, revisión, análisis y discusión de datos experimentales. Por ello, la participación individual en estas discusiones semanales será parte de la evaluación. Habrá un examen al final de cada sección que incluirá la evaluación de aspectos como la comprensión del marco teórico del problema o sistema experimental, el conocimiento de los fundamentos de técnicas empleadas en los experimentos, la visualización de la estrategia experimental usada para abordar el problema y la capacidad de análisis de los resultados obtenidos. Se aplicará un examen Departamental de acuerdo a los lineamientos estipulados por la Sria. Académica de Docencia.

PERFIL PROFESIOGRÁFICO DE QUIENES PUEDEN IMPARTIR LA ASIGNATURA

El Profesor deberá ser un académico con posgrado en Ciencias Bioquímicas o áreas relacionadas, con experiencia en las técnicas experimentales a impartir y preferentemente que desarrolle actividades de investigación en alguno(s) de los temas que va a impartir. Es recomendable que los profesores cuenten con vocación hacia la docencia y de fácil interacción con los alumnos.