



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

1. ASIGNATURA / COURSE TITLE

INGENIERÍA GENÉTICA Y DE PROTEÍNAS / GENETIC AND PROTEIN ENGINEERING

1.1. Código / Course number

31057

1.2. Materia / Content area

Ingeniería Genética y de Proteínas / Genetic and Protein Engineering

1.3. Tipo / Course type

Obligatoria / Mandatory

1.4. Nivel / Course level

Máster / Master

1.5. Curso/ Year

Único / One course

1.6. Semestre / Semester

Primero / First

1.7. Idioma / Language

Inglés / English

1.8. Requisitos previos / Prerequisites

Además de los generales del Máster, es necesario poseer buenos conocimientos en genética molecular y estructura de proteínas, así como de técnicas básicas de biología molecular.

In addition to those needed to enroll in the Master, a good conceptual basis on molecular genetics and protein structure, as well as a basic knowledge on molecular biology techniques are required.



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

1.9. Requisitos mínimos de asistencia a las sesiones presenciales / **Minimum attendance requirement**

El estudiante deberá asistir al menos a un 85% de las sesiones presenciales completas en cada una de las dos partes de esta asignatura y deberá presentar por escrito un justificante válido para cada ausencia.

The student should be present in at least 85% of the classroom sessions of each of the two parts of this course, and he/she should provide a valid justification in writing for each session he could not attend

1.10. Datos del equipo docente / **Faculty data**

Mauricio García Mateu (*coordinador* y profesor, Ingeniería de Proteínas)

Department: Biología Molecular

Faculty: Ciencias

Office: CBM, Lab-205

Phone 0034 91 1964575

E-mail: mgarcia@cbm.uam.es

Website:

http://www.cbm.uam.es/mkfactory.esdomain/webs/CBMSO/plt_LineasInvestigacion.aspx?IdObjeto=19

Office hours: under appointment

Miguel Ángel Fernández Moreno (*coordinador* y profesor, Ingeniería Genética)

Department: Bioquímica

Faculty: Medicine

Office: Lab B-19

Phone: 0034 914 973129

E-mail: miguel.fernandez@uam.es

Website: <http://www.bq.uam.es/>

Office hours: under appointment

Juan José Arredondo Lamas

Department: Bioquímica

Faculty: Medicine

Office: Lab B-20

Phone: 0034 91 4975402

E-mail: jjarredondo@iib.uam.es

Website: <http://www.bq.uam.es/>

Office hours: under appointment

Jesús Cruces

Department: Bioquímica



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

Faculty: Medicine
Office: Lab B-17
Phone: 0034 914975406
E-mail: jesus.cruces@uam.es
Website: <http://www.bq.uam.es/>
Office hours: under appointment

Pilar Eraso

Department: Bioquímica
Faculty: Medicine
Office: Lab B-26
Phone: 0034 914972731
E-mail:
pilar.eraso@uam.es
Website: <http://www.bq.uam.es/>
Office hours: under appointment

María Esther Gallardo Pérez

Department: Bioquímica
Faculty: Medicine
Instituto de Investigación 12 de Octubre
Office: Lab B-19
Phone: 0034 914975452
E-mail: egallardo@iib.uam.es,
egallardo@iib.uam.es
Website: <http://www.bq.uam.es/>
Office hours: under appointment

Francesc García

Department: Bioquímica
Faculty: Medicine
Office: Lab C11
Phone: 0034 91 497 5447
E-mail: francesc.garcia@uam.es
Website: <http://www.bq.uam.es/>
Office hours: under appointment

Oscar Hernán Martínez Costa

Department: Bioquímica
Faculty: Medicine
Office: Lab B-42
Phone: 0034 914975332
E-mail: omtnes@iib.uam.es
Website: <http://www.bq.uam.es/>
Office hours: under appointment

Gema Moreno

Department: Bioquímica
Faculty: Medicine



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

Office: Lab B-16
Phone: 0034 914978974
E-mail: gmoreno@iib.uam.es
Website: <http://www.bq.uam.es/>
Office hours: under appointment

Francisco Portillo

Department: Bioquímica
Faculty: Medicine
Office: Lab B-26
Phone: 0034 914972732
E-mail: francisco.portillo@uam.es
Website: <http://www.bq.uam.es/>
Office hours: under appointment

Bruno Sainz Anding

Department: Bioquímica
Faculty: Medicine
Office: Lab B-35
Phone: 0034 914973385
E-mail: bruno.sainz@uam.es
Website: <http://www.bq.uam.es/>
Office hours: under appointment

Aurora Sánchez Pacheco

Department: Bioquímica
Faculty: IIB"Alberto Sols"
Office: Lab 0.4
Phone: 0034 915854418
E-mail: asanchez@iib.uam.es
Website: <http://www.bq.uam.es/>
Office hours: under appointment

Isabel Sánchez

Department: Bioquímica
Faculty: IIB"Alberto Sols"
Office: Lab 1.11
Phone: 0034 915854380
E-mail: misanchez@iib.uam.es
Website: <http://www.bq.uam.es/>
Office hours: under appointment

Leandro Sastre

Department: Bioquímica
Faculty: IIB"Alberto Sols"
Office: Lab 2.13
Phone: 0034 915854437
E-mail: lsastre@ib.uam.es
Website:



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

<http://www.iib.uam.es/script/personas.es.cgi?codigo=241>
Office hours: under appointment

1.11. Objetivos del curso / Course objectives

El objetivo general del módulo es proporcionar al estudiante un conocimiento avanzado de las técnicas de Ingeniería Genética y de Proteínas así como potenciar su capacidad para aplicarlas.

The general aim of this module is to provide the students with an advanced knowledge on techniques of Genetic and Protein Engineering and foster their capability to apply them.

COMPETENCIAS ESPECÍFICAS:

Ingeniería Genética:

i) familiarizarse con las herramientas más usuales que se utilizan para la generación racional de moléculas de ADN recombinante (enzimas, plásmidos, etc). ii) Conocer las técnicas más usuales que se utilizan para la identificación, caracterización y valoración de ácidos nucleicos y proteínas (PCR, electroforesis, western blot, etc). iii) Adquirir o desarrollar los conocimientos básicos de control de la expresión génica necesarios para diseñar estrategias que permitan añadir, suprimir o modificar la funcionalidad del material genético en diferentes sistemas biológicos. iv) Conocer y discutir algunas de las aplicaciones más importantes de la Ingeniería Genética mediante el estudio de casos reales. v) Entrar en contacto con los procesos de investigación y desarrollo de productos, bienes y servicios en base a la manipulación selectiva y programada de los procesos celulares y biomoleculares. vi) Desarrollar la capacidad de presentar trabajos científicos o técnicos de una manera clara y concisa. vii) Adquirir la capacidad de aprender de modo continuado, autónomo y auto-dirigido.

Ingeniería de proteínas:

i) conocer las técnicas y estrategias más usuales utilizadas para la modificación de proteínas con fines de investigación y/o aplicados. ii) conocer y valorar algunas de las aplicaciones más importantes de la Ingeniería de Proteínas, mediante el estudio de casos reales; iii) diseñar alguna posible nueva aplicación de la Ingeniería de Proteínas a un problema específico.

SPECIFIC CAPABILITIES



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

Genetic Engineering:

i) to familiarize with most usual tools for rational design of recombinant DNA molecules (enzymes, plasmids, etc.). ii) to know the most usual techniques for identification, characterization and evaluation of nucleic acids and proteins (PCR, electrophoresis, western blot, etc.). iii) to acquire or develop basic knowledge of control of gene expression necessary to design strategies to add, to suppress or to modify the functionality of genetic material from different biological systems. iv) to know and discuss some applications of Genetic Engineering studying real cases. v) to contact the processes of research and developing of products by selective and programmed manipulation of cellular and biomolecular processes. vi) to develop the ability to show scientific or technical work in a clear and concise way. vii) to acquire the capabilities for learning in a continuous, autonomous and self-led way.

Protein Engineering:

i) to learn the techniques and approaches frequently used in basic and applied research for engineering proteins; ii) to learn, through the study of some real examples, some of the most important applications of Protein Engineering; iii) to be capable to design a possible modification of a protein to try and solve a specific scientific or technological problem.

1.12. Contenidos del programa / Course contents

En el curso se abordarán las técnicas y herramientas que se deben emplear para realizar experimentos de ingeniería genética, se hará una aproximación básica a la transferencia génica en algunos sistemas y se discutirá alguna de sus aplicaciones más importantes. Los alumnos aprenderán a identificar y aislar moléculas de ADN de interés, a combinarlas con otras moléculas de ADN de distinta procedencia y a transferirlos de un sistema biológico a otro. Se comentarán algunas técnicas de obtención de animales genéticamente modificados y se estudiará alguna de sus aplicaciones en investigación básica y biotecnología.

Se estudiarán los aspectos básicos de la estructura y función de proteínas necesarios para poder intentar la modificación exitosa de las mismas; se tratarán en detalle las diferentes técnicas de diseño racional, combinatorial o mixto para modificar las propiedades y aplicaciones de diferentes tipos de proteínas, incluyendo métodos de análisis estructural, mutagénesis y selección de variantes; se incluirán ejemplos relevantes de modificación de proteínas para la profundización en el conocimiento de las mismas o para



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

aplicaciones biotecnológicas; y se planteará a los alumnos problemas concretos sobre ingeniería de proteínas para que estos estudien posibles soluciones. Estos problemas incluirán la termoestabilización de una proteína, la mejora de su actividad enzimática o la adquisición de una nueva actividad enzimática, entre otros. También se considerará el diseño de novo de proteínas.

PROGRAMA

DÍA 1. Presentación. Introducción general y contenido del curso. Objetivos de la Ingeniería Genética y de la Ingeniería de Proteínas. Estructuración del curso. Asignación de casos de estudio y artículos científicos para la presentación y discusión por parte de los estudiantes. Formación de grupos y presentación de tutores. Asuntos prácticos del curso: Lecciones interactivas, trabajo presencial y no presencial, y criterios de evaluación. Referencias para el estudio.

Parte 1- Ingeniería Genética

DÍA 2. Herramientas y técnicas en Ingeniería Genética (2 horas).

DÍA 3. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Situación general y situaciones específicas (2 horas).

DÍA 4. Vectores en Ingeniería Genética (2 horas).

DÍA 5. Aplicaciones de la Ingeniería Genética (2 horas).

DÍA 6. Tutoría. Planteamiento del problema. Identificación y análisis del gen de interés.

DÍA 7. Tutoría. Dudas y discusión sobre problema a resolver.

DÍA 8. Tutoría. características de la proteína, conservación evolutiva y secuencia genómica del gen que la codifica incluyendo 2kb upstream y downstream, secuencia del mRNA.

DÍA 9. Tutoría. Discusión sobre problema a resolver.

DÍA 10. Tutoría. Sistemas de clonaje en procariotas. Estrategia, selección de vector, diseño de cebadores, condiciones de PCR.



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

DÍA 11. Tutoría. Discusión sobre problema a resolver.

DÍA 12. Tutoría. Clonaje del ADN de interés, identificación de clones positivos, comprobación.

DÍA 13. Tutoría. Sistemas de clonaje en eucariotas. Estrategia, selección de vector, diseño de cebadores, condiciones de PCR.

DÍA 14. Tutoría. Discusión sobre problema a resolver.

DÍA 15. Tutoría. Clonaje del ADN de interés, ensayo funcional: condiciones de transfección, comprobación.

DÍA 16. Tutoría. Discusión general.

Parte 2- Ingeniería de Proteínas

DÍA 17. Principios de la estructura y función de las proteínas.

DÍA 18. Aproximaciones generales a la Ingeniería de Proteínas: Ingeniería racional, ingeniería combinatorial, diseño de novo

DÍA 19. Técnicas básicas para la modificación de proteínas. Desarrollos iniciales en Ingeniería de Proteínas. Estudios estructura-función en proteínas: una visión general.

DÍA 20. Ingeniería de Proteínas racional mediante mutagénesis dirigida.
Caso de estudio I.
Caso de estudio II.

DÍA 21. Ingeniería de Proteínas racional mediante mutagénesis dirigida (cont.): Modificación de la estabilidad.
Caso de estudio III.
Discusión sobre la estabilización de proteínas.

DÍA 22. Ingeniería de Proteínas racional mediante mutagénesis dirigida (cont.): Modificación del reconocimiento molecular proteína-ligando.
Caso de estudio IV.
Discusión sobre la modificación de la interacción proteína-ligando.



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

DÍA 23. Ingeniería de Proteínas racional mediante mutagénesis dirigida (cont.): Modificación de la actividad catalítica.

Caso de estudio V.

Discusión sobre la modificación de la actividad catalítica.

DÍA 24. Ingeniería de Proteínas combinatorial: Mutagénesis al azar (oligonucleótidos degenerados, PCR propensa a error). Análisis sistemático y selección mediante tecnologías de presentación de variantes.

Caso de estudio VI.

Caso de estudio VII.

DÍA 25. Ingeniería de Proteínas combinatorial: Selección mediante tecnologías de presentación de variantes (cont.).

Caso de estudio VIII.

Discusión sobre mutagénesis combinatorial, análisis sistemático y selección de variantes de la proteína.

DÍA 26. Ingeniería de Proteínas combinatorial: DNA shuffling.

Caso de estudio IX.

Caso de estudio X.

DÍA 27. Ingeniería de Proteínas mixta (racional y combinatorial).

Caso de estudio XI.

Discusión general sobre Ingeniería racional y combinatorial.

DÍA 28. Minimización de proteínas. Diseño de proteínas de novo.

Caso de estudio XII.

Caso de estudio XIII.

DÍA 29. Diseño de proteínas de novo (cont.).

Caso de estudio XIV.

Discusión sobre el diseño de proteínas.

DÍA 30. Revisión general del presente y futuro de las aplicaciones biotecnológicas de la Ingeniería de Proteínas en Biomedicina y la Industria. Ejemplos adicionales.

DÍA 31. Examen.

This module will deal with techniques and tools required to carry out Genetic Engineering experiments, with a basic approach to genetic transfer and will discuss some remarkable applications. Pupils will learn to identify and to isolate DNA molecules of interest, to combine with other DNA



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

molecules from different origins and to transfer to other organisms. We will comment some techniques to generate genetically modified organisms and will study some applications in basic research and biotechnology.

We will also study the basic aspects of protein structure and function necessary to try their successful modification; we will treat in detail different techniques for rational, combinatorial or mixed approaches to modify the properties and applications of different types of proteins, including methods for structural analysis, mutagenesis and selection of variants; we will include some remarkable examples of protein modification aimed at providing insights on protein function, or for biotechnological applications. Specific case studies will be assigned to the students. These case studies will include the thermostabilization of a protein, the improvement of its enzymatic activity or the acquisition of a new activity. Finally, the *de novo* design of proteins will be introduced and discussed.

PROGRAMME

DAY 1. Presentation. General introduction and contents of the course. Goals of Genetic Engineering and Protein Engineering. Teaching and learning methodology. Assignment of case studies-scientific articles for presentation and discussion by the students. Practical matters for this course: interactive lessons, homework and evaluation criteria. References for study.

Part 1- Genetic Engineering

DAY 2. Tools and techniques in Genetic Engineering. (2 hours).

DAY 3. Polymerase Chain Reaction (PCR). General and specific situations. (2 hours).

DAY 4. Vectors in Genetic Engineering. (2 hours).

DAY 5. Applications of Genetic Engineering. (2 hours).

DAY 6. Tutorial. Problem analysis. Identification y study of the gene of interest.

DAY 7. Tutorial. Discussion about the problem to resolve.



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

DAY 8. Tutorial. Characteristics of the protein, evolutive conservation and genomic sequence including 2 kb upstream and downstream, mRNA sequence.

DAY 9. Tutorial. Discussion about the problem to resolve.

DAY 10. Tutorial. Cloning in Prokaryots. Strategy, vector selection, primers selection, PCR conditions.

DAY 11. Tutorial. Discussion about the problem to resolve.

DAY 12. Tutorial. Cloning of the DNA of interest, indentification of positives clones, checking.

DAY 13. Tutorial. Cloning in Eukaryots. Strategy, vector selection, primers design, PCR conditions

DAY 14. Tutorial. Discussion about the problem to resolve.

DAY 15. Tutorial. Cloning of the DNA of interest, indentification of positives clones, functional assays: conditions for transfection, checking..

DAY 16. Tutorial. General discussion.

Part 2- Protein Engineering

DAY 17. Principles of protein structure and function: a reminder.

DAY 18. General approaches to Protein Engineering: Rational engineering, combinatorial engineering, de novo design.

DAY 19. Basic techniques for engineering proteins. Early developments in Protein Engineering. Structure-function studies of proteins using protein engineering: an overview.

DAY 20. Rational Protein Engineering by fusion of protein domains, insertion of peptide segments, or site-directed mutagenesis.

Case study I.

Case study II.

DAY 21. Rational Protein Engineering by site-directed mutagenesis (cont.): engineering stability.

Case study III.

Discussion on protein stabilization.



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

DAY 22. Rational Protein Engineering by site-directed mutagenesis (cont.): engineering binding.

Case study IV.

Discussion on engineering ligand binding.

DAY 23. Rational Protein Engineering by site-directed mutagenesis (cont.): engineering catalysis.

Case study V.

Discussion on engineering catalysis.

DAY 24. Combinatorial Protein Engineering: random mutagenesis (degenerate oligonucleotides, error-prone PCR). Screening, selection by display technologies.

Case study VI.

Case study VII.

DAY 25. Combinatorial Protein Engineering: Selection by display technologies (cont.).

Case study VIII.

Discussion on combinatorial mutagenesis, screening and selection.

DAY 26. Combinatorial Protein Engineering: DNA shuffling.

Case study IX.

Case study X.

DAY 27. Mixed rational and combinatorial Protein Engineering.

Case study XI.

General discussion on rational and combinatorial Protein Engineering.

DAY 28. Protein minimization. De novo Protein Design.

Case study XII.

Case study XIII.

DAY 29. De novo Protein Design (cont.).

Case study XIV.

Discussion on Protein Design.

DAY 30. Overview of present and future biotechnological applications of Protein Engineering in biomedicine and the industry. Further examples.

DAY 31. Examination.

1.13. Referencias de consulta / Course bibliography

Parte 1: Ingeniería Genética

1.- La página web por excelencia para buscar bibliografía en artículos o revisiones de revistas presentes en el Citation Index es:

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=pubmed>

2.- libros generales (como medio para comprender los sistemas a manipular):

- **Lewin's GENES XI.** (2014). Jocelyn E. Krebs, Elliott S. Goldstein and Stephen T. Kilpatrick. Jones and Bartlett publishers. Ontario. Canada. ISBN-13: 9781449659851

- **Biología Molecular y Celular.** H. Lodish, A. Berk, C.A. Kaiser, M. Krieger, M.P. Scott, J. Bretscher, Ploegh and P. Matsudaira. 6ª Edición. Freeman and Company, New York, 2007.

3.- Libros específicos de Ingeniería Genética:

- **Principles of Gene Manipulation** (2006) Seventh Edition By Sandy B. Primrose, Richard Twyman.

4.- Libros de técnicas:

- **Molecular Cloning a laboratory manual.** Green and Sambrook. Fourth edition 2012. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York. USA.

5.- *Acceso a otras bases y programas de análisis*

Rastreos

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

- <http://www.ensembl.org/>

Herramientas de análisis

- <http://us.expasy.org/>

- <http://www.ebi.ac.uk/>

- http://nar.oxfordjournals.org/content/vol36/suppl_1/index.dtl



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

- <http://research.med.helsinki.fi/plasmadna/>

Casas comerciales

- <http://www.invitrogen.com/site/us/en/home/Products-and-Services/Applications/RNAi-Epigenetics-and-Gene-Regulation/RNAi.html?CID=fl=rnai>

- <http://tools.neb.com/NEBcutter2/index.php>

Secuencias de genomas

- http://www.genome.ad.jp/kegg/catalog/org_list.html

- <http://www.sanger.ac.uk/Projects/>

- <http://bioinfo.weizmann.ac.il/cards/index.shtml>

- <http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>

diseño de oligos

- http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi

vectores y plásmidos

- <http://www.addgene.org/pgvec1?f=v&cmd=listvecinfo>

Uso de codones

- <http://www.kazusa.or.jp/codon/>

Para enzimas de restricción

- <http://rebase.neb.com/rebase/rebase.html>

- <http://tools.neb.com/NEBcutter2/index.php>

- <http://watcut.uwaterloo.ca/watcut/watcut/template.php>

- http://www.biophp.org/minitools/restriction_digest/demo.php

Parte 2: Ingeniería de Proteínas

-Libros de texto sobre estructura y función de proteínas.

Los libros de Pestko, Whitford and Williamson (indicados en la lista de referencias) suministran una información fácil de entender y muy aconsejable sobre la estructura y función de proteínas. La lectura y comprensión de los capítulos más básicos de uno de estos libros, o por lo menos de los capítulos

sobre estructura y función de proteínas en un libro general de Bioquímica, se considerará como actividad no presencial a realizar al principio del curso.

- Petsko, Ringe**. PROTEIN STRUCTURE AND FUNCTION. NSP, 2004.
- Whitford**. PROTEINS. STRUCTURE AND FUNCTION. Wiley, 2005.
- Williamson**, HOW PROTEINS WORK. Garland Science, 2012.
- Gómez-Moreno, Sancho** (coordinadores). ESTRUCTURA DE PROTEÍNAS. Ed. Ariel, 2003.
- Liljas et al**. TEXTBOOK OF STRUCTURAL BIOLOGY. World Scientific Publishing, 2009.
- Branden, Tooze**, INTRODUCTION TO PROTEIN STRUCTURE, 2ºed. Garland, 1999.
- Fersht**, STRUCTURE AND MECHANISM IN PROTEIN SCIENCE, 2ºed, Freeman, 1999.

-Libros sobre Ingeniería de Proteínas.

La mayoría de los escasos libros existentes sobre este tema están desfasados, son muy incompletos, y/o son muy especializados y avanzados. En general consisten en compilaciones sesgadas de algunos artículos, y no son adecuados como libros de texto. Ejemplos de libros relativamente sencillos:

- Alberghina (ed)**. PROTEIN ENGINEERING IN INDUSTRIAL BIOTECHNOLOGY. Harwood Academic Publishers, 2000.
- Brakman and Johnsson (eds)**. DIRECTED MOLECULAR EVOLUTION. Wiley-VCH, 2002.

-Una excepción a lo mencionado: De modo particular para el diseño de novo de proteínas, el capítulo 19 en el libro de Moreno y Sancho (ver más arriba) es excelente para entender los principios, aunque empieza a quedar desactualizado.

- Al comenzar el curso se suministrarán referencias a muchos artículos de revisión especializados sobre las diferentes técnicas y aplicaciones de Ingeniería de Proteínas.

-Revisiones pioneras sobre Ingeniería de Proteínas (cómo empezó):

- Ulmer** (1983) Science 219, 666-670.
- Leatherbarrow and Fersht** (1986) Prot Eng 1, 7-16.

-Algunas revistas que incluyen artículos de revisión sobre Ingeniería de Proteínas: Curr Op Biotechnol, Curr Op Struct Biol, Curr Op Pharm Des, TIBTECH, TIBS, Biotechnol Adv, Crit Rev Biotechnol, Adv Enzymol (sólo métodos).



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

-Algunas revistas que incluyen artículos sobre Ingeniería de Proteínas (algunas pueden incluir revisiones): Nature, Science, PNAS, Nature Biotechnol, Nature Struct Biol, JACS, Angew Chemie, Cell, EMBO J, J Biol Chem, J Mol Biol, Biochemistry, Protein Science, Protein Eng, Biomol Eng, J Mol Recog, BBA, Chem Biol, Chem Biochem.

-Algunas revistas especializadas en biotecnología o nanotecnología que incluyen artículos sobre Ingeniería de Proteínas (algunas pueden incluir revisiones): Nature Biotechnol, J Biotechnol, Biotechnol Bioeng, BMC Biotechnol, Biotechnol J, Mol Biotechnol, Appl Microbiol Biotechnol, Appl Environ Microbiol. Revistas de nanotecnología, como Nature Nanotechnology, ACS Nano, Nano Letters, Nanoscale, Small y otras, incluyen algunos artículos en los que se modifican proteínas para aplicaciones nanotecnológicas.

-Algunas direcciones de Internet:

<http://www.rcsb.org/pdb>

Acceso al Protein Data Bank (PDB). Contiene archivos con las coordenadas atómicas de las proteínas y ácidos nucleicos cuya estructura ha sido resuelta, y otra información relevante. Estas coordenadas son necesarias para la visualización y manipulación de estructuras en el ordenador.

<http://oca.ebi.ac.uk/oca-bin/ocamain>

Sitio de acceso al PDB desde el European Bioinformatics Institute. Puede ser más fácil de usar que el sitio original.

<http://www.umass.edu/microbio/rasmol/index2.htm>

Acceso a la página del programa de visualización de estructuras RasMol. Este programa, de libre acceso, puede importarse a través de la red en versiones apropiadas a PC o MacIntosh, junto al correspondiente manual, y utilizarse para la visualización de estructuras de proteínas o ácidos nucleicos. Para ello se necesita además importar del PDB (direcciones anteriores) los archivos de coordenadas atómicas de las moléculas de interés. Existen otros programas de visualización, incluyendo Protein Explorer que es una versión más actual basada en RasMol, o Pymol.

<http://www.usm.maine.edu/~rhodes/RasTut>

Un "tutorial" sobre RasMol.

<http://www.cryst.bbk.ac.uk/PPS2/>

Curso en red sobre estructura de proteínas.

<http://www.rcsb.org/pdb/education.html>



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

Lista de recursos educativos en Internet que contemplan la estructura de proteínas.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

National Center for Biotechnology Information (NCBI). Base de datos anotada sobre secuencias de ácidos nucleicos (GenBank). En coordinación con el European Bioinformatics Institute. Análisis de secuencias y estructuras y diversos enlaces.

<http://www.ebi.ac.uk>

European Bioinformatics Institute (EBI). Base de datos anotada sobre secuencias de ácidos nucleicos (EMBL Data Library). En coordinación con el National Center for Biotechnology Information. Análisis de secuencias y estructuras y diversos enlaces.

<http://www.expasy.ch>

Swiss Institute of Bioinformatics. Base de datos anotada sobre secuencias de proteínas (SWISS-PROT). En colaboración con la EMBL Data Library. Análisis de secuencias y estructuras y diversos enlaces.

Part 1: Genetic Engineering

There is an great amount of information sources in this field:

1.- The most used web page to look for information in biological and medical sciences is:

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=pubmed>

2.- Among Molecular Genetic books as a source of a general knowledge to understand the systems to manipulate are remarkable:

- *Lewin´s Genes X*. (2009) Jocelyn E. Krebs, Elliott S. Goldstein Stephen T. Jones & Bartlett Publisher.

- *Molecular and cellular Biology*. H. Lodish, A. Berk, C.A. Kaiser, M. Krieger, M.P. Scott, J. Bretscher, Ploegh and P. Matsudaira.. 6ª Edición. Freeman and Company, New York, 2007.

3.- Among Genetic Engineering books we recommend:



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

- *Principles of Gene Manipulation* (2006) Seventh Edition By Sandy B. Primrose, Richard Twyman.

4.- Among books of techniques we recommend:

- *Molecular Cloning a laboratory manual*. Sambrook and Russell. Third edition 2001. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York. USA.

5.- Access to other bases and analysis programs:

Cyber-Screenings

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- <http://www.ensembl.org/>

Analysis tools

- <http://us.expasy.org/>
- <http://www.ebi.ac.uk/>
- http://nar.oxfordjournals.org/content/vol36/suppl_1/index.dtl
- <http://research.med.helsinki.fi/plasmadna/>

Commercial companies

- <http://www.invitrogen.com/site/us/en/home/Products-and-Services/Applications/RNAi-Epigenetics-and-Gene-Regulation/RNAi.html?CID=fl=rnai>
- <http://tools.neb.com/NEBcutter2/index.php>

Genomes sequences:

- http://www.genome.ad.jp/kegg/catalog/org_list.html
- <http://www.sanger.ac.uk/Projects/>
- <http://bioinfo.weizmann.ac.il/cards/index.shtml>
- <http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>
- <http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>

Primer design:

- http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi

vectors:

- <http://www.addgene.org/pgvec1?f=v&cmd=listvecinfo>

Codon Usage Database



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

- <http://www.kazusa.or.jp/codon/>

Restriction enzymes:

- <http://rebase.neb.com/rebase/rebase.html>
- <http://tools.neb.com/NEBcutter2/index.php>
- <http://watcut.uwaterloo.ca/watcut/watcut/template.php>
- http://www.biophp.org/minitools/restriction_digest/demo.php

Part 2: Protein Engineering

-Textbooks on protein structure and function

The books by Pestko, Whitford and Williamson (listed below) provide an easy to grasp and strongly advisable knowledge on protein structure and function. Reading and understanding some basic chapters in one of those books, or at least the chapters related to protein structure and function in a general biochemistry textbook, will be considered as a compulsory non-presential activity at the beginning of the course.

- Pestko, Ringe. PROTEIN STRUCTURE AND FUNCTION. NSP, 2004.
- Whitford. PROTEINS. STRUCTURE AND FUNCTION. Wiley, 2005.
- Williamson, HOW PROTEINS WORK. Garland Science, 2012.
- Gómez-Moreno, Sancho (coordinadores). ESTRUCTURA DE PROTEÍNAS. Ed. Ariel, 2003.
- Liljas et al. TEXTBOOK OF STRUCTURAL BIOLOGY. World Scientific Publishing, 2009.
- Branden, Tooze, INTRODUCTION TO PROTEIN STRUCTURE, 2ºed. Garland, 1999.
- Fersht, STRUCTURE AND MECHANISM IN PROTEIN SCIENCE, 2ºed, Freeman, 1999.

-Books on Protein Engineering.

Most of the few books available on this subject are out of date, very incomplete and/or way too specialized and advanced. They essentially provide biased compilations of papers, and are inadequate as textbooks. Examples of introductory books:

- Alberghina (ed). PROTEIN ENGINEERING IN INDUSTRIAL BIOTECHNOLOGY. Harwood Academic Publishers, 2000.



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

-**Brakman and Johnsson (eds). DIRECTED MOLECULAR EVOLUTION.** Wiley-VCH, 2002.

-One exception to the comment above: specifically for *de novo protein design*, **chapter 19 in Moreno and Sancho's book** on protein structure (see above) is excellent to understand basic principles, although it is somewhat outdated regarding advanced developments.

-References to many review articles on different Protein Engineering techniques and applications will be provided at the beginning of the course.

-Very early reviews on Protein Engineering (how it all began):

-**Ulmer (1983)** Science 219, 666-670.

-**Leatherbarrow and Fersht (1986)** Prot Eng 1, 7-16.

-Some review journals which include review articles on protein engineering: Curr Op Biotechnol, Curr Op Struct Biol, Curr Op Pharm Des, TIBTECH, TIBS, Biotechnol Adv, Crit Rev Biotechnol, Adv Enzymol (only deals with methods).

-Some research journals which include articles on protein engineering. Some may include also reviews: Nature, Science, PNAS, Nature Biotechnol, Nature Struct Biol, JACS, Angew Chemie, Cell, EMBO J, J Biol Chem, J Mol Biol, Biochemistry, Protein Science, Protein Eng, Biomol Eng, J Mol Recog, BBA, Chem Biol, Chem Biochem.

-Some specialized biotechnology or nanotechnology journals which include articles on protein engineering. Some may include also reviews: Nature Biotechnol, J Biotechnol, Biotechnol Bioeng, BMC Biotechnol, Biotechnol J, Mol Biotechnol, Appl Microbiol Biotechnol, Appl Environ Microbiol. nanotechnology journals, such as Nature Nanotechnology, ACS Nano, Nano Letters, Nanoscale, Small and others, include some articles in which proteins are engineered for nanotechnological applications.

-Some internet addresses:

<http://www.rcsb.org/pdb>

Access to Protein Data Bank (PDB). It contains coordinate files for all proteins and nucleic acids whose structure has been solved, and other relevant information. The coordinate files are needed for visualization and manipulation of the structural models using a computer.

<http://oca.ebi.ac.uk/oca-bin/ocamain>

Access to PDB from the European Bioinformatics Institute. May be easier to use than the original site.



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

<http://www.umass.edu/microbio/rasmol/index2.htm>

Access to RasMol program webpage. RasMol is freeware, can be downloaded in PC or Mac versions together with an instruction manual, and used to visualize protein and nucleic acid structures. To do the latter, the coordinate files of the molecules of interest must be downloaded from the PDB (previous addresses). There are other molecular graphics programs, including Protein Explorer (a RasMol-based version), or Pymol.

<http://www.usm.maine.edu/~rhodes/RasTut>
A RasMol tutorial.

<http://www.cryst.bbk.ac.uk/PPS2/>
On-line course on protein structure.

<http://www.rcsb.org/pdb/education.html>
List of education resources in Internet about protein structure.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
National Center for Biotechnology Information (NCBI). Nucleic acid sequence database (GenBank). In coordination with the European Bioinformatics Institute. Sequence and structure analysis and various links.

<http://www.ebi.ac.uk>
European Bioinformatics Institute (EBI). Nucleic acid sequence database (GenBank). In coordination with the National Center for Biotechnology Information. Sequence and structure analysis and various links.

<http://www.expasy.ch>
Swiss Institute of Bioinformatics. Annotated protein sequence database (SWISS-PROT). In collaboration with EMBL Data Library. Sequence and structure analysis and various links.

2. Métodos docentes / Teaching methodology

Parte 1. Ingeniería Genética

- Cuatro clases magistrales por parte de los profesores con discusión activa por parte de los alumnos.
- Cada alumno recibirá dos péptidos pertenecientes a la misma proteína que deberá identificar. Describirá el gen que la codifica y hará un breve resumen del mismo (ver programa), diseñará una estrategia de clonaje del cDNA en



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

bacterias para sobreexpresar la proteína y otra en un vector eucariota con vistas a realizar ensayos funcionales sobre células en cultivo.

- A lo largo de la serie de tutorías previstas, los alumnos presentarán la evolución de los procesos de búsqueda, estudio así como los materiales y los métodos utilizados para la resolución de los problemas planteados. Las tutorías serán de cuatro alumnos como máximo. El profesor explicará las partes del proceso no comprendidas.

- Descripción por los alumnos a nivel individual del proceso general de la resolución del problema.

Parte 2. Ingeniería de Proteínas

-Lecciones interactivas impartidas por el profesor.

-Presentaciones de artículos de investigación seleccionados por el profesor para ilustrar cada técnica y/o aplicación general importantes de la Ingeniería de Proteínas.

-Preguntas y respuestas de alumnos a profesor y de profesor a alumnos relacionadas con el artículo expuesto.

-Exposición por el profesor de los aspectos generales de una técnica o aplicación de Ingeniería de Proteínas, a partir del ejemplo expuesto en cada presentación.

-Planteamiento por el profesor de algunos casos sencillos a resolver por los alumnos de forma no presencial. Exposición de las respuestas en clase.

-Debates particulares y generales sobre Ingeniería de Proteínas, sus aplicaciones y su papel en la Ciencia y la Tecnología.

Part 1: Genetic Engineering

- Four lectures to teach the basic concepts and some relevant and illustrative applications followed by an active discussion with pupils.

- Every pupil will receive the sequence of two peptides belonging to the same protein which should identify. Pupils will describe the codifying gene and will make a short abstract about gene and protein characteristics (see program). They will design a cloning strategy of cDNA into bacteria for overexpression and into an eukaryotic vector in order to carry out functional assays.



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

- Within tutorials, pupils will show the situation of the processes of search and study and the materials and methods used to solve their specific questions and problems. Tutorials will include four pupils at the most. Tutors will explain misunderstood points.

- Individual description by pupils of the general process.

Part 2: Protein Engineering

-Interactive lectures by the supervisor.

-Presentations by the students of research articles. These have been previously selected by the supervisor to illustrate each important technique and/or general application of Protein Engineering.

-Questions and answers related to the article presented, from students to supervisor and from supervisor to students.

-Presentation by the supervisor of the general aspects of each important technique or application of Protein Engineering, based on the specific examples provided by the articles presented by the students.

-Case studies provided by the supervisor, to be solved by the students as homework. Discussion in the classroom of the solutions found by the students.

-Specific and general debates on Protein Engineering, its applications and its role in Science and Technology.

3. Tiempo de trabajo del estudiante / Student workload

Parte de Ingeniería Genética / Genetic Engineering part :

		Nº de horas	Porcentaje
Presencial	Clases teóricas	8	33%
	Seminarios	0	
	Realización del examen final	0	

	Tutorías	17	
No presencial	Estudio semanal	4 x 5 semanas	66%
	Preparación seminario	20	
	Preparación del examen	10	
Carga total de horas de trabajo		75	

Parte de Ingeniería de proteínas/ **Protein Engineering part:**

		Nº de horas	Porcentaje
Presencial	Clases teóricas	6	32%
	Seminarios	16.5	
	Realización del examen final	1.5	
No presencial	Preparación del seminario	20	68%
	Estudio, preparación discusiones	15	
	Estudio, preparación del examen	16	
Carga total de horas de trabajo		75	

Parte 1: Ingeniería Genética

El estudiante deberá usar las 50 h de trabajo no presencial para:

- i) Aprender o recordar los conceptos básicos sobre expresión génica.
- ii) Aprender, recordar o revisar el material visto en las clases magistrales sobre las herramientas y las técnicas más utilizadas en este campo.
- iii) Leer y comprender el caso de estudio asignado y presentar adecuadamente los objetivos, aproximación experimental y dudas.

Parte 2: Ingeniería de Proteínas

El estudiante deberá usar las 51 h de trabajo no presencial para:



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

- i) Leer y recordar los conceptos básicos sobre estructura y función de proteínas.
- ii) Leer y comprender el caso de estudio/artículo de investigación asignado, y preparar una presentación oral del mismo.
- iii) Leer y comprender la esencia de cada uno de los otros casos de estudio/artículos de investigación que presentarán sus compañeros; leer además otras revisiones y artículos sobre ingeniería de proteínas.
- iv) Leer, estudiar y pensar sobre los casos de estudio y las preguntas formuladas en clase, durante las lecciones y las presentaciones de los artículos.
- v) Asistir a tutorías personales o colectivas.

Part 1: Genetic Engineering

The student should use this 50 h allocated time:

- i) To learn or to remember the basic concepts on gene expression.
- ii) To learn, to remember or to look through the contents of the lectures about tools and techniques in the field.
- iii) To learn and to understand the assigned case report and to present objectives, experimental approach and doubts suitably.

Part 2: Protein Engineering

The student should use this 51 h allocated time to:

- i) Read on and remember the most basic principles of protein structure and function.
- ii) Read and understand the assigned paper, and prepare your presentation on it.
- iii) Read and understand the basics of the other 13 papers to be presented by your fellow students, and also read some other reviews and papers on protein engineering of your choice.
- iv) Read, study and think on the case studies and questions posed during the lectures and the paper presentations.
- v) Personal or collective tutorials with his/her supervisor.



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

4. Métodos de evaluación y porcentaje en la calificación final / **Evaluation procedures and weight of components in the final grade**

El alumno que no asista al menos al 85% de las sesiones presenciales de cada parte (Ingeniería Genética e Ingeniería de Proteínas) no será evaluado. El alumno que no haya presentado el trabajo oral o escrito de cada parte será calificado como no evaluado.

Parte 1: Ingeniería Genética

Evaluación en la convocatoria ordinaria: En el bloque de Ingeniería Genética, la calificación será el resultado de evaluar (i) la resolución de un breve cuestionario al final de cada sesión teórica (10%), (ii) un trabajo sobre las actividades desarrolladas durante el tiempo de este bloque de la asignatura que tendrá una extensión máxima de 4 hojas para el bloque principal de información y de 5 hojas para el material suplementario (45%), (iii) la presentación por escrito de la resolución de un problema práctico planteado por los tutores (25%) y (iiii) el 20% restante corresponde a la evaluación continuada realizada por los tutores.

Para proceder a la incorporación de la nota de la parte de Ingeniería Genética al cálculo de la nota final del módulo se ha de lograr una calificación en la misma de, al menos, la mitad de la máxima.

La rúbrica de la evaluación del trabajo sobre las actividades realizadas queda reflejada en:

Peptides Work Rubric

(1.0 punto) Proteína: información general

Nombre; secuencia de amino ácidos; motivos funcionales; función asignada o posible; ortólogos; posible localización intracelular.

(1.0 punto) Gen: información general

0.3 puntos

Nombre.
Estructura.

0.7 puntos



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

cdNA; Isoformas.; secuencia genómica incluyendo 2kb upstream y downstream mostrando únicamente los 25 nucleótidos de las fronteras; (2kb upstream, alrededor del transcription start point, 5'UTR, fronteras exon-intron, 3'UTR, etc.).

(4.0 puntos) Clonaje de la región codificante en un vector de expresión de E.coli.
(Explicar).

1.0 punto

Descripción de la fusión utilizada como herramienta para purificar la proteína (GST, his-tag, myc-tag, flag-tag.....)

1.5 puntos

Vector seleccionado; sitio 5' de clonaje; sitio 3' de clonaje; secuencia de los primers directo y reverso; reacción de RT-PCR (fuente del mRNA, condiciones, purificación del producto); Ligación y transformación

1.5 puntos

Selección de los transformantes positivos (si es mediante PCR, primers utilizados, tamaño de los amplicones positivo y negativo, método; si es mediante análisis de restricción, obtención de DNA plasmidico, digestión y análisis).
Confirmación del clonaje y de la fusión mediante secuenciación. Primers utilizados
Secuencia de la construcción final (incluyendo la secuencia relevante del vector)
Expresión y purificación de la proteína

(4.0 puntos) Clonaje del cDNA en un vector de expresión en células humana
(Explicar).

1.0 punto

Vector eucariota elegido; Eukaryotic vector selected.; sitio 5' de clonaje; sitio 3' de clonaje; secuencia de los primers directo y reverso.

1.5 puntos

Fuente de la Open Reading Frame a clonar
Clonaje en el vector eucariota (describir el proceso como en el caso procarionta. Clonaje previo en un vector de E.coli si se desea)

1.5 puntos

Expresión de la proteína en células humanas en cultivo. Análisis de expresión y función. Comprobación de la localización intracelular correcta.

La rúbrica de la evaluación del problema final queda reflejada en:

Rúbrica del problema final

(3.0 puntos) Diagrama general del proceso

Material de partida: plásmidos, construcciones, librería de cDNA, etc.

Pasos:

Reacción/es de PCR, digestión con enzima/s de restricción, fragmento/s obtenido/s
Reacción/es de Ligación



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

Construcciones intermedias y nuevas reacciones (si alguna)
Construcción final

(1.0 punto) Obtención de los dominios de unión a DNA y de activación de GAL4

Para clonaje directo o parcial:

sitio 5´ de clonaje
sitio 3´ de clonaje
secuencia de los primers directo y reverso

(1.0 punto) Obtención del dominio principal de su proteína (PPD)

sitio 5´ de clonaje
sitio 3´ de clonaje
secuencia de los primers
Reacción/es

(1.0 punto) Construcciones intermedias (en el caso de no realizarlas, el valor de este apartado se suma al próximo)

DNA donador y receptor
sitio 5´ de clonaje
sitio 3´ de clonaje
secuencia de los primers
Reacción/es

(4.0 punto) Construcción Final

Material de partida para este punto
Ligación y transformación
Detalles para la identificación de transformantes positivos
Confirmación del clonaje y la fusión por secuenciación: primers.
Secuencia de la construcción final (incluyendo la secuencia relevante del vector)

Evaluación en la convocatoria extraordinaria para aquellos alumnos que no hayan alcanzado el 50% de la nota máxima o no hayan sido evaluados: se realizará una nueva evaluación en convocatoria extraordinaria dentro del mismo curso académico. Ésta se desarrollará de la siguiente manera: El alumno entregará un informe escrito detallado y realizará la presentación oral del mismo en relación a un problema práctico que le harán llegar los coordinadores dentro de un período de 15 días desde la comunicación de las calificaciones de la convocatoria ordinaria.

Parte 2: Ingeniería de Proteínas

Evaluación en la convocatoria ordinaria: La evaluación del bloque de Ingeniería de proteínas se realizará en función de lo siguiente:



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

1. **La comprensión de un artículo de investigación y la preparación y presentación del mismo en clase (40% de la nota).** Se considerará para esta nota la claridad de la presentación, y especialmente la comprensión del trabajo presentado y de otras investigaciones relacionadas, así como las respuestas dadas a las preguntas del profesor y de los demás estudiantes sobre ese trabajo.

2. **La participación en otras actividades de clase (10% de la nota).** Por ejemplo, las respuestas a cuestiones que el profesor podrá plantear como trabajo no presencial, o para resolver en el momento en la clase; la participación activa con preguntas, o con respuestas a las preguntas de otros en clase; y la participación en la discusión general conjunta de la asignatura.

3. **Un examen escrito (50% de la nota).** El examen será de tipo test, contendrá entre 10 y 20 preguntas, cada una con 4 respuestas alternativas, a elegir una. Las preguntas versarán sobre aspectos importantes tratados en las clases de la asignatura, incluyendo las lecciones, el conjunto de trabajos presentados por estudiantes, y las discusiones y conclusiones sobre lecciones y trabajos presentados.

Evaluación en la convocatoria extraordinaria del mismo curso académico, para aquellos alumnos que no hayan alcanzado el 50% de la nota máxima o no hayan sido evaluados: En el momento en que salgan las calificaciones de la convocatoria ordinaria, el estudiante suspendido o no evaluado que desee presentarse a la convocatoria extraordinaria deberá solicitar que se le asigne un nuevo artículo de investigación cuya exposición deberá preparar con antelación, y exponer y discutir el día de la convocatoria extraordinaria. La calificación se hará del siguiente modo: Punto 1, de la misma forma que para la convocatoria ordinaria; punto 2, se guardarán las notas obtenidas durante el curso; punto 3, tras la exposición oral del nuevo artículo se realizará un examen escrito con una organización similar al de la convocatoria ordinaria. La nota final se obtendrá del mismo modo que para la convocatoria ordinaria.

La nota final para el módulo, se obtendrá mediante la media aritmética de las calificaciones obtenidas en las partes de Ingeniería Genética e Ingeniería de Proteínas siempre que se haya obtenido, al menos, la mitad de la calificación máxima en cada una de ellas.

The student who fails to attend to at least 85% of the classroom sessions of each part (Genetic Engineering and Protein Engineering) will not be evaluated. The student who fails to present the oral or written works assigned in each part will not be evaluated.



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

Part 1: Genetic Engineering

Ordinary evaluation: The grade of the Genetic Engineering part is the result of evaluating: (i) the solution of a brief questionnaire at the end of every lecture (10%), (ii) a paper about activities developed during the time of this part with an extension of 4 pages at most for the core of information and 5 pages for supplementary material (45%), (iii) a paper with the solution to a practical case set out by tutors (25%) and (iiii) the remaining 20% corresponds to the tutor's evaluation of the student's general trajectory and his/her evolution through the course.

In order to incorporate the grade of Genetics Engineering section to the calculation of the final result is required to get, at least, 50% of maximal grade.

The rubric for evaluation of the activities developed during the Genetic Engineering block (the peptides work) is shown in:

Peptides Work Rubric

(1.0 point) Protein: general information

Name; Amino acid sequence; Functional motifs; Assigned or putative function; Orthologues; Putative intracellular location

(1.0 point) Gene: general information

0.3 points

Name.
Structure.

0.7 points

cDNA; Isoforms.; Genomic Sequence including 2kb upstream and downstream showing only 25 nts of the limits (2kb upstream, around transcription start point, exon-intron frontiers, 3' end).

(4.0 points) Coding Region cloning in a E.coli expression vector. (Explain points).

1.0 point

Description of the fusion used as a tool to purify the protein (GST, his-tag, myc-tag, flag-tag.....)

1.5 point



Vector selected; 5´ restriction cloning site; 3´ restriction cloning site; sequence of the forward and reverse primer; RT-PCR reaction (mRNA source, conditions, purification of product); Ligation and transformation

1.5 point

Selection of positive transformants (if by PCR method, primers used, positive and negative amplicon size, method; if by restriction analysis obtention of plasmid DNA, restriction reactions and analysis).
Confirmation of cloning and fusion by sequencing. Primers.
Sequence of the final construct (including the relevant sequence from the vector)
Expression and purification of the protein

(4.0 points) cDNA cloning in a human cells expression vector. (Explain points).

1.0 point

Eukaryotic vector selected.; 5´ restriction cloning site; 3´ restriction cloning site; sequence of the forward and reverse primers.

1.5 point

Source of the Open Reading Frame to clone
Cloning in a eukaryotic vector (detailed process as above. Previous cloning in a *E.coli* vector if desired)

1.5 point

Expression of the protein in human culture cells. Analysis of expression and function.
Checking a correct intracellular final location of the protein.

The rubric for evaluation of the final problema is shown in:

Final Problem Rubric

(3.0 points) General diagram of the process

Starting material: plasmids, constructs, cDNA library, etc.
Steps:
PCR reaction/s, restriction enzymes treatment/s, fragment/s obtained
Ligation rection/s
Intermediate constructs and new reactions (if any).
Final construction

(1.0 points) Obtaining Gal4 DNA Binding and Activation Domains

For partial or for direct cloning:

5´ restriction cloning site/s
3´ restriction cloning site/s
sequence of the forward primer/s
sequence of the reverse primer/s
Reactions



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

(1.0 points) Obtaining the principal domain of your protein (PPD)

5' restriction cloning site
3' restriction cloning site
sequence of the forward primer
sequence of the reverse primer
Reaction/s

(1.0 points) Intermediate constructs (in case this is not required the value of this point is added to next one)

Donor a receipt DNA
5' restriction cloning site/s
3' restriction cloning site/s
sequence of the forward primer/s
sequence of the reverse primer/s
Reaction/s

(4.0 puntos) Final construct

Starting material of this point
Ligation and transformation
Details for identification of positive transformants
Confirmation of cloning and fusion by sequencing. Primers.
Sequence of the final construct (including the relevant sequence from the vector)

Second-chance evaluation for those pupils who have not reached the 50% of the maximum qualification or have not been evaluated: a new evaluation as extraordinary option within the same academic course will be carried out. This exam will be made as follows: the pupils will present a detailed written report and its oral presentation in relation to a practical case received from tutors 15 days after the ordinary exam results.

Part 2: Protein Engineering

Evaluation: The grade (mark) you will obtain on the Protein Engineering part will be on the basis of the following:

1. **The presentation of a research paper** selected by the student (40% of the final mark). The clarity of the presentation, and especially a good understanding of the work presented and of related work, and the answers provided to questions by the supervisor and fellow students will be considered.



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas
Código: 31057
Centro: Facultad de Ciencias
Titulación: Máster en Biotecnología
Nivel: Máster
Tipo: Optativa
Nº de créditos: 6 ECTS

2. The individual participation in other activities (10% of the final mark): For example, answering a few questions the supervisor may present to study as homework, or to solve on the spot during the sessions; active participation by asking and/or answering questions by others during the sessions; and participation in the general collective discussion.

3. Written examination (50% of the final mark). The test questions-based exam will contain between 10 and 20 questions, each having 4 alternative answers to choose one. Questions will be related to important aspects dealt with during lessons, the set of 14 case studies presented by the students and related discussions and conclusions.

Second-chance evaluation in the same academic course, for those students who have not reached 50% of the maximum qualification or have not been evaluated: Immediately after the grade obtained in the ordinary evaluation is published, the students who failed or were not evaluated and wish to make use of a second-opportunity evaluation should contact the coordinator, who will assign a new research article to the student. The student should prepare the article beforehand to present and discuss it the day the second evaluation will take place. The grade obtained will be as follows: Point 1: as explained above for the ordinary evaluation; point 2, the grade obtained during the course will be applied; point 3, a new written examination will take place immediately after the presentation of the research article. The exam will be organized like the one that formed part of the ordinary evaluation. The final grade will be obtained as explained for the ordinary evaluation.

The final grade in this module will be obtained by averaging the grades obtained in the Genetic Engineering and Protein Engineering parts. It is strictly required obtaining at least the half of the highest grade in both of them.

5. Cronograma* / Course calendar

Part I: Genetic Engineering

Semana aprox. Week	Contenido Contents	Horas presenciales Contact hours	Horas no presenciales Independent study time
1	Clases teóricas Lectures	8	10
2	Tutorías Tutorials	4	10
3	Tutorías; preparación seminario Tutorials; seminar	4	10

Semana aprox. Week	Contenido Contents	Horas presenciales Contact hours	Horas no presenciales Independent study time
	preparation		
4	Tutorías; preparación Seminario Tutorials; seminar preparation	4	10
5	Tutorías; preparación examen Tutorials; exam preparation	5	10

Part II: Protein Engineering*

Semana aprox. Week	Contenido Contents	Horas presenciales Contact hours	Horas no presenciales Independent study time
1	Clases teóricas y seminarios; preparación del seminario*, discusiones y examen. Lectures and seminars; preparation of seminar*, discussions and exam.	8	17
2	Seminarios; preparación de seminario*, discusiones y examen. Seminars; preparation of seminar*, discussions and exam.	8	17
3	Seminarios; preparación del seminario*, discusiones y examen. Seminars; preparation of seminar*, discussions and exam; examination.	8	17

*El cronograma es orientativo. La distribución semanal exacta de horas presenciales figura en el horario académico oficial. La preparación del seminario a impartir por cada grupo de alumnos, especialmente de aquellos que impartirán los primeros seminarios en la primera y segunda semana de impartición de esta parte, debe iniciarse durante la primera parte de la asignatura BT1.

*This chronogram provides some orientation only. Contact hours per week are indicated in more detail in the official academic schedule. Those students in charge of the first seminars (first and second week of this part) should start the preparation of their seminars during the first part of the BT1 course.



Asignatura: Ingeniería Genética y de Proteínas

Código: 31057

Centro: Facultad de Ciencias

Titulación: Máster en Biotecnología

Nivel: Máster

Tipo: Optativa

Nº de créditos: 6 ECTS