

**MASTER EN BIOTECNOLOGÍA AVANZADA**  
**PRODUCCIÓN DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES**

**3créditos ECTS. Optativa.**

**Breve descripción de la asignatura incluyendo las practicas**

La producción de proteínas recombinantes es una de las principales aportaciones de la Biotecnología moderna. Estas proteínas son producidas en organismos vivos o líneas celulares modificados genéticamente, diferentes del que las genera originalmente. Existen una gran variedad de sistemas biológicos para producir proteínas recombinantes, tanto procarióticos como eucarióticos, la elección de uno u otro dependerá en gran medida del uso o aplicación que se le quiera dar a dichas proteínas. Aspectos como la cantidad, tipo de modificación postraducciona l o actividad biológica, determinan que sistema de expresión se va a utilizar para expresar la proteína de interés.

Muchas proteínas se utilizan como agentes terapéuticos en sanidad humana o animal, como vacunas o en la industria farmacéutica, alimentaria, textil o química (prácticamente todas las enzimas que se emplean en estas industrias son recombinantes). Obtenerlas de fuentes naturales resulta en muchas ocasiones muy complicado y costoso, por lo que gracias al desarrollo de la Ingeniería genética, es posible producirlas en la cantidad y con la calidad necesaria para los fines buscados. Es una metodología en continuo desarrollo, que permanentemente busca nuevos sistemas de expresión mas eficaces y menos costosos.

En nuestro curso, exclusivamente teórico, empezaremos con conceptos de ingeniería de proteínas, para continuar con el abordaje de los distintos sistemas de expresión disponibles en la actualidad. Se tratarán los principios básicos de cada procedimiento, organismos y vectores de expresión disponibles, métodos de trabajo, escalado y formatos comerciales. La intención es proporcionar al alumno herramientas conceptuales y metodológicas que le permitan decidir qué sistema de expresión utilizar para obtener su proteína de interés.

**Conocimiento previo necesario**

La producción de proteínas recombinantes se fundamenta en los conocimientos adquiridos en Ingeniería Genética, Biología Molecular y Bioquímica, Cultivos celulares, Biología Celular y Fisiología Animal. Los graduados en Biología, Bioquímica, Biotecnologías y de otros grados de la rama biosanitaria tienen los conocimientos suficientes para poder seguir y aprovechar los contenidos impartidos en este módulo. Otros graduados, necesitarán de alguna formación complementaria que podrán tomar de la oferta de asignaturas de los distintos Master que se ofertan en el Centro.

## **Programa actualizado de la asignatura**

Tema 1. Proteínas de interés industrial. Extremoenzimas. Ingeniería de proteínas: diseño racional vs evolución dirigida. Mutagénesis dirigida. Mutagénesis al azar. Métodos recombinantes y no recombinantes. Relación entre estructura primaria y actividad. Bases de datos en relación a la ingeniería de proteínas. Metagenómica. Estabilidad de proteínas. Cambio de puentes de disulfuro. Sensibilidad a proteasas. Mejora simultánea de varias propiedades.

Tema 2. Introducción. Expresión en E. coli: promotores y vectores de expresión más utilizados. Solubilidad y estabilidad de las proteínas: cuerpos de inclusión y su manipulación. Expresión y purificación de proteínas fusionadas a His o GST.

Tema 3. Introducción a la expresión de proteínas en levaduras. Expresión en Saccharomyces cerevisiae: promotores, vectores y secreción de proteínas. Expresión en Schizosaccharomyces pombe: promotores y vectores. Expresión en Pichia pastoris: metabolismo, promotores y vectores. Expresión de proteínas en hongos filamentosos: generalidades.

Tema 4. Expresión de proteínas en plantas. Las plantas como biofactorías. Sistemas de transferencia genética. Modificaciones post-traduccionales. Producción de proteínas terapéuticas. Producción de anticuerpos en plantas. Producción de vacunas: ¿vacunas comestibles?. Plantas transgénicas como alimentos funcionales. Bioseguridad.

Tema 5. Expresión de proteínas recombinantes en sistemas libres de células y ovocitos de Xenopus laevis. Fundamentos, características, protocolos y ejemplos.

Tema 6. Expresión de proteínas recombinantes en células de insecto infectadas por baculovirus. Obtención de baculovirus recombinantes. Plásmidos donadores. Tipos de promotores. Tipos de células de insecto, características y aspectos básicos de su cultivo. Protocolos de trabajo. Estrategias para mejorar la productividad. Escalado de la producción de proteínas: expresión en larvas y cultivos en masa

Tema 7 Sistemas de expresión en células de mamíferos. Introducción, características. Expresión transitoria vs permanente. Tipos de vectores. Líneas celulares usuales y aspectos básicos de su cultivo. Protocolos de trabajo. Los baculovirus como vectores de expresión en células de mamíferos.

## **Especialidad del profesorado**

### **Manuel Cifuentes Rueda**

En el año 2000 se incorporó al grupo del Prof. José Becerra coincidiendo con el inicio de su línea de investigación centrada en la osteogénesis y desde entonces trabaja activamente en la producción de proteínas recombinantes (bFGF, BMP-2 y BMP-6) con dominios moleculares específicos para unirse a colágeno o hidroxapatita y péptidos biomiméticos, que serán utilizados para la funcionalización de biomateriales osteo y condrogénicos, micro y

nanoestructurados, basados en colágeno y/o hidroxapatita. Durante estos años ha trabajado activamente con sistemas de expresión procarióticos (E.coli) y eucarióticos (levaduras y células de insecto) y ha realizado una estancia breve en el Centro Nacional de Biotecnología (CSIC) para perfeccionar las técnicas relacionadas con la expresión de proteínas en células de Insecto infectadas por baculovirus. Como resultado de ello son las dos tesis doctorales dirigidas, así como las publicaciones derivadas de ellas.

En el año 2010 se incorporó al Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales, y Nanomedicina (CIBER-BBN) como investigador asociado. A principios de 2012 se incorpora a BIONAND como parte del equipo liderado por el Dr. Becerra, en el área de Nanobiotecnología.

#### Juan Carlos Aledo Ramos

Mi interés académico abarca todos los aspectos de la evolución molecular. Sin embargo, mi esfuerzo investigador está centrado en desentrañar los determinantes que condicionan la evolución de las proteínas. En lo que toca a la materia docente en la que participo en este máster, puedo añadir que poseo experiencia, abalada por publicaciones científicas, en la expresión de proteínas recombinantes en distintos sistemas (bacterias, levaduras y células humanas en cultivo).

#### Pilar María Arrabal García

Su carrera científica se ha centrado en la producción de proteínas recombinantes y su aplicación en ingeniería tisular. Sus primeros estudios le llevaron a la obtención y caracterización de la proteína quimera BMP2-CBD que, en combinación con matriz de colágeno, potencia el desarrollo osteogénico, además de favorecer su retención en el lugar de aplicación, pudiendo ser utilizada a menor concentración que la proteína nativa utilizada en aplicaciones clínicas. Para ello, y tras realizar estancias breves en el CNB, se especializó en la producción de proteínas recombinantes utilizando los sistemas de expresión en baculovirus y en E. coli. Posteriormente profundizó en la modificación de factores de crecimiento y moléculas biomiméticas con diferentes dominios de unión a matriz extracelular para favorecer la regeneración de defectos óseos. La aplicación de estas moléculas osteoinductoras permite funcionalizar biomateriales de forma que se consigue una mayor osteoconducción y osteointegración. Ha formado parte del equipo investigador de numerosos proyectos de investigación financiados por organismos públicos en convocatorias competitivas. Forma parte del grupo de investigación Laboratorio de Bioingeniería y Regeneración Tisular (LABRET) integrado en el Ciber-bbn y en la Red de Terapia Celular (Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Economía y Competitividad) y del Centro de Nanomedicina y Biotecnología (BIONAND).

## Rick Visser

Aunque originalmente inició su labor investigadora en el estudio de estructuras del sistema nervioso adulto, con el comienzo de su Tesis Doctoral se recondujo hacia el campo de la ingeniería tisular del sistema musculoesquelético, centrándose en el diseño y producción de factores de crecimiento recombinantes humanos en sistemas de expresión eucarióticos. Posteriormente, durante una estancia predoctoral en el Centro Nacional de Biotecnología de Alemania (GBF) bajo dirección de la Dra. Ursula Rinas, incorporó la producción de proteínas recombinantes en sistemas procarióticos y en biorreactores de gran volumen. Actualmente continúa investigando en el campo de la regeneración del tejido óseo, estudiando nuevas combinaciones de biomateriales, factores recombinantes y péptidos sintéticos para mejorar la reparación de fracturas o integración de implantes, entre otros. Realiza su labor como parte del grupo de investigación del Laboratorio de Bioingeniería y Regeneración Tisular (LABRET), liderado por el Prof. Dr. José Becerra, e integrado en el Ciber-bbn y en la Red de Terapia Celular (Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Economía y Competitividad) y localizado en el Centro Andaluz de Nanomedicina y Biotecnología (BIONAND).