

MÁSTER EN BIOTECNOLOGÍA AVANZADA
PRODUCCIÓN DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES

3créditos ECTS. Optativa.

Breve descripción de la asignatura

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. Existe una gran variedad de sistemas biológicos para producir proteínas recombinantes, tanto procarióticos como eucarióticos, y 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, determinarán qué sistema de expresión será más apropiado para expresar la proteína de interés.

Muchas proteínas se emplean 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, pero el desarrollo de la ingeniería genética hizo 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 más eficaces, rápidos o sencillos y menos costosos.

En esta asignatura, exclusivamente teórica, empezaremos con conceptos de ingeniería de proteínas, para continuar con un recorrido por los distintos sistemas de expresión disponibles en la actualidad, siempre con un enfoque comparativo y aplicado. 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 una proteína determinada.

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 u 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 másteres que se ofertan en el Centro.

Programa actualizado de la asignatura

Tema 1. Proteínas de interés industrial. Extremoenzimas. Ingeniería de proteínas: diseño racional *versus* 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 disulfuro. Sensibilidad a proteasas. Mejora simultánea de varias propiedades.

Tema 2. Introducción a la expresión en *Escherichia 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. Generalidades de la expresión de proteínas en hongos filamentosos.

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 y 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

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. José Becerra, e integrado en el CIBER-BBN y en la Red de Terapia Celular (Instituto de Salud Carlos III) y localizado en el Centro Andaluz de Nanomedicina y Biotecnología (BIONAND).

Noemí Ruiz López

La docente se licenció en el año 2000 y durante toda su carrera científica ha trabajado activamente con sistemas de expresión procarióticos (*E.coli*, *A. tumefaciens*) y eucarióticos (levaduras y plantas), experiencia avalada por publicaciones científicas. En el año 2016, se incorporó a la Universidad de Málaga, en el grupo del Prof. Miguel Ángel Botella Mesa, para estudiar la remodelación lipídica que se produce en el proceso de aclimatación al frío en *Arabidopsis thaliana*. Concretamente, trabaja con una familia de proteínas localizadas en puntos de contacto entre el retículo endoplásmico y la membrana plasmática y que se denominan Synaptotagaminas. Para sus estudios *in vitro* es necesario la producción y purificación de las proteínas recombinantes en estudio. En el año 2018, se ha incorporado al Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea (IHSM-CSIC-UMA) como Investigadora Ramón y Cajal.