

RESUMEN

La Bioquímica es una disciplina básica para todas las titulaciones del área de las ciencias de la salud, y por tanto para el grado de Biotecnología. Un buen biotecnólogo ha de tener una sólida base de conocimientos bioquímicos. Los conocimientos y aproximaciones experimentales de la bioquímica se aplican en numerosos laboratorios de investigación básica y aplicada, no solo del área de la bioquímica, sino de otras áreas afines.

El inglés es el lenguaje científico por excelencia, con el que tendrán que familiarizarse nuestros alumnos, ya que muchos de ellos se dedicarán a la investigación. Además, para el desarrollo de su futuro TFG, tendrán que manejar literatura científica en inglés. Muchos de nuestros estudiantes del Grado de Biotecnología realizan estancias Erasmus y un alto porcentaje de graduados de Biotecnología realizan másteres en universidades europeas.

Por ello, es importante trabajar con la competencia transversal lingüística que les facilite la comprensión y expresión en inglés. El intercambio lingüístico con nativos de habla inglesa es la manera ideal de mejorar la comprensión y expresión en inglés. No obstante, dichos intercambios se suelen realizar en contextos coloquiales en los que lógicamente no se emplea la terminología científica.

El objetivo general de este proyecto ha sido familiarizar a los alumnos de 2º curso del Grado en Biotecnología con la terminología científica en inglés en el área de Bioquímica, y proporcionarles la oportunidad de realizar un intercambio lingüístico con nativos de habla inglesa con intereses comunes, en un entorno académico.

Se han cumplido los tres objetivos concretos que se plantearon: Hemos elegido los casos prácticos relacionados con la Bioquímica (Objetivo 1). Los alumnos han resuelto dichos casos prácticos (Objetivo 2) en grupos mixtos de estudiantes españoles y estadounidenses, empleando el inglés como lenguaje vehicular y de esta manera llevando a cabo el intercambio lingüístico propuesto (Objetivo 3).

El grado de satisfacción con el desarrollo del proyecto es alto tanto por parte de los profesores como de los estudiantes de 2º de grado en Biotecnología de la USAL y de los estudiantes de la Universidad de Wake Forest.

DESARROLLO DEL PROYECTO

El proyecto se ha desarrollado en cuatro etapas:

1. Selección y elaboración de materiales docentes. Selección de los casos prácticos:

Los profesores responsables del PID hemos elaborado en cada asignatura tres casos prácticos de temas relacionados con las asignaturas Bioquímica I y Bioquímica II.

Bioquímica I

1. *“Acute aspirine overdose: Relationship to the blood buffering system”*

Estudio práctico de la acción de los sistemas amortiguadores en el organismo.

2. *“Purification of an enzyme”*

Estudio práctico del proceso de purificación de una proteína en un laboratorio de bioquímica.

3. *“Sickle cell anemia: a molecular disease of hemoglobin”*

Estudio de la relación estructura función de proteínas tomando como ejemplo una variante mutada de la hemoglobina.

Bioquímica II

4. *“Inhibition of Alcohol Dehydrogenase”*

Estudio de los principios de la actividad enzimática y del efecto de inhibidores. Análisis de la cinética enzimática en presencia y ausencia de inhibidores

5. *“Deduction of the tricarboxylic acid cycle”*

Análisis de los experimentos que permitieron la deducción de esta vía metabólica.

6. *“Uncoupling electron transport and oxidative phosphorylation. Mitochondrial uncoupling proteins”*

Estudio de cómo puede desacoplarse el transporte electrónico y la fosforilación oxidativa mediante agentes químicos o fisiológicamente para producir calor.

En los Anexos 1 y 2 se adjuntan dos de los materiales trabajados en las clases de seminario de Bioquímica I (caso 2) y Bioquímica II (caso 4) respectivamente.

2. Presentación del proyecto a los estudiantes.

Al inicio de curso, se presentó el proyecto a los estudiantes de las dos asignaturas, y se llevó a cabo un debate con los alumnos para conocer su acogida al presente PID. La respuesta de nuestros alumnos fue positiva, y según nos manifestaron la idea de poder compartir estas actividades con los alumnos estadounidenses les parecía muy atractiva y al mismo tiempo un desafío estimulante.

Al inicio del segundo semestre del curso, también se presentó el Proyecto a los estudiantes de la Universidad de Wake Forest que también manifestaron una predisposición positiva hacia el mismo.

3. Puesta en práctica

Se llevó a cabo en dos fases. En el primer semestre nuestros alumnos de Bioquímica I trabajaron sobre los materiales propuestos en grupos de 3 ó 4 alumnos en clases de seminario. Al final de la clase, entregaron un documento con las respuestas a las cuestiones planteadas, y una vez entregadas se llevó a cabo un debate entre profesores y estudiantes analizando las respuestas. Además, una vez corregidas las cuestiones, se entregó el documento a los distintos grupos para que pudieran comprobar las respuestas. Esta primera fase permitió a nuestros alumnos familiarizarse con la actividad.

Durante el segundo semestre (actividades correspondientes a Bioquímica II) se llevó a cabo la actividad de la misma manera, pero contando con los alumnos de la universidad americana de Wake Forest. Se hicieron 6 grupos en los que había un estudiante estadounidense y entre 4 y 5 estudiantes de la USAL. La actividad se llevó a cabo de la misma forma, empleado el inglés tanto escrito como hablado

4. Evaluación

Evaluación interna: Una vez entregadas las tareas, en cada una de las sesiones se llevó a cabo una parte de discusión con los alumnos, en la que se expusieron las respuestas correctas a las preguntas formuladas. Además, las tareas fueron corregidas por los profesores y entregadas a los alumnos para su revisión.

Evaluación externa: Al finalizar las clases, se realizó una encuesta para analizar el grado de satisfacción de los alumnos con el proyecto.

RESULTADOS

Presentación inicial del proyecto

Durante la sesión de presentación del Proyecto los profesores mantuvimos un debate con los alumnos de la USAL acerca del uso del inglés científico en la disciplina de Bioquímica. Los alumnos nos transmitieron que son plenamente conscientes de la necesidad de dominar este idioma para el desarrollo de su futuro profesional.

Además, nos transmitieron que les parecía una buena idea emprender las actividades propuestas. El hecho de poder contactar con estudiantes cuya lengua nativa es el inglés y que estuvieran cursando la misma asignatura pareció una idea que les atraía y les suponía un reto al mismo tiempo, sobre todo por la timidez a expresarse en otra lengua.

En resumen, la disposición de los estudiantes ante el proyecto presentado fue altamente positiva.

Desarrollo de los seminarios

Los seminarios escogidos se intentaron compaginar con el desarrollo teórico de las asignaturas. Los alumnos dispusieron con antelación del material necesario, y el desarrollo de las preguntas y tareas propuestas se llevó a cabo exclusivamente durante las sesiones presenciales de seminarios.

Durante los seminarios correspondientes al primer semestre (Bioquímica I) los grupos fueron de 3-4 alumnos de la USAL, que trabajaron en la resolución de las tareas propuestas y contestaron (en inglés) a las preguntas planteadas. Los dos profesores asistimos para responder a las dudas que surgieron. También pudieron consultar diferentes fuentes con sus ordenadores o teléfonos móviles. En este periodo se empleó fundamentalmente el inglés escrito por parte de los estudiantes de Biotecnología para responder a las cuestiones propuestas.

Durante los seminarios correspondientes al segundo semestre (Bioquímica II) la dinámica fue la misma, aunque en este caso los grupos fueron de 4-5 alumnos de la USAL y un alumno de la Universidad de Wake Forest. Nos hubiese gustado que los grupos fuesen menos numerosos, pero estábamos limitados por el número de estudiantes estadounidenses, lo que nos permitió hacer 6 grupos de trabajo. Cada uno de los grupos tenía un alumno de la USAL que ejerció de portavoz, que además había de coordinar las labores del grupo.

Al finalizar el seminario, entregaron un documento con las respuestas y a continuación se llevó a cabo un debate con los alumnos para discutir las respuestas a las tareas. Intentamos que en el debate interviniese no solo el portavoz del grupo sino también el resto del equipo. Los alumnos de la USAL vencieron rápidamente su timidez a expresarse en inglés, y el grado de participación fue muy satisfactorio.

Además, una vez corregido el material entregado, se lo devolvimos a los estudiantes para que revisaran las correcciones, y pudiesen ver sus calificaciones

Las calificaciones fueron muy satisfactorias con una nota media de 8,4, oscilando entre 7,4 y 9,4.

Para favorecer la interacción entre los estudiantes españoles y americanos, en la primera sesión se empleó una media hora con actividades “rompehielo” para favorecer la interacción entre ellos; durante las sesiones del segundo cuatrimestre que eran de 2 horas de duración, se hizo un descanso de unos minutos que los alumnos pudieron aprovechar para contactar fuera de la clase, lo que pensamos que favoreció el intercambio cultural.

Encuesta de satisfacción de los estudiantes con el desarrollo del proyecto

Para analizar el grado de satisfacción de los estudiantes con el proyecto, los estudiantes contestaron de manera anónima a la encuesta que se adjunta en el Anexo III, y cuyos resultados mostramos en la figura 1.

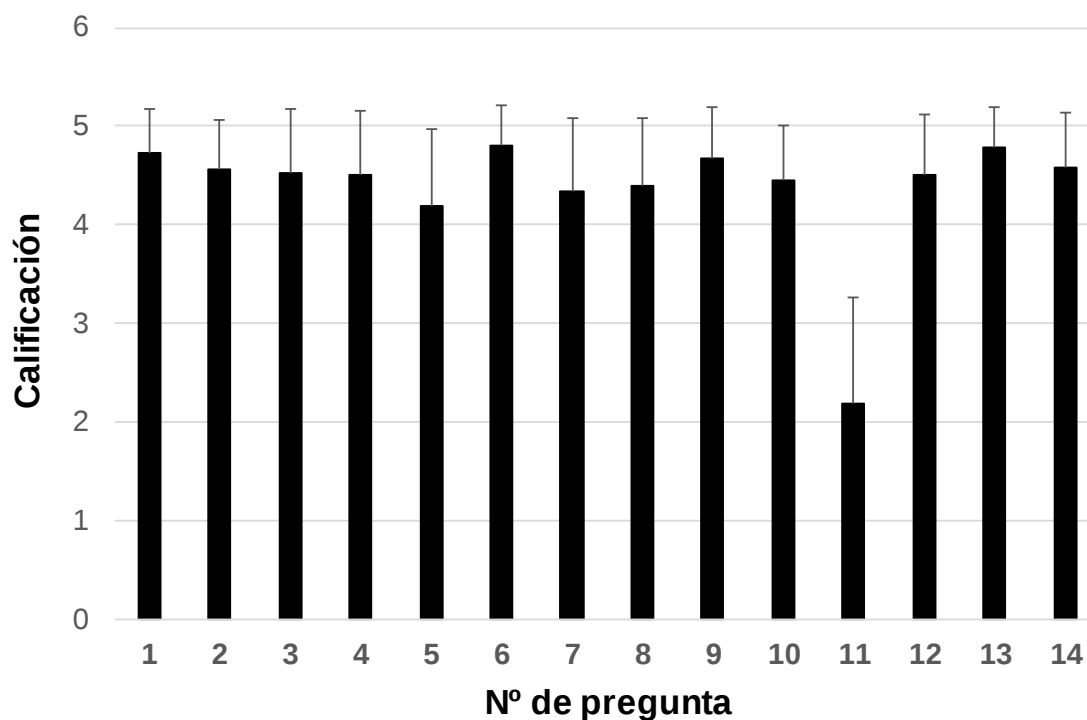


Fig. 1: Resumen de los resultados de la encuesta de satisfacción de los alumnos. Datos obtenidos a partir de las respuestas de 36 estudiantes (30 de la USAL y 6 de la Universidad de Wake Forest).

La actividad tuvo una acogida muy positiva por los estudiantes en lo que respecta tanto a su estructura y como a su contenido (Preguntas 1 a 4) y desarrollo (Preguntas 8, 9, 10), con valoraciones medias claramente por encima de 4.

El nivel de participación de los alumnos de ambas procedencias (pregunta 5) así como la labor de guía de los profesores (pregunta 6) también recibieron una calificación alta (4,2 y 4.8 respectivamente).

En lo que respecta a la valoración de los alumnos de la actividad en el contexto del aprendizaje de las asignaturas (pregunta 7), también recibió una calificación global alta (4,3), lo que nos indica que la actividad parece contribuir muy positivamente al aprendizaje de los alumnos.

Las barreras del lenguaje (pregunta 11, calificación de 2,2) no parecen haber sido un problema para el desarrollo de la actividad, y los estudiantes manifiestan sentirse cómodos a la hora de expresar sus ideas en inglés (pregunta 12, calificación de 4,5).

Los alumnos manifiestan que recomendarían este tipo de actividad a otros estudiantes (pregunta 13, calificación de 4,8). Y el grado de satisfacción general del proyecto ha sido muy alto a tenor de la calificación de 4,6 de la pregunta 14.

En relación con **los comentarios positivos**, de los estudiantes, destacan:

- Les ayuda a comprender mejor algunos conceptos y corregir algunos malentendidos en referencia a algunos conceptos de las asignaturas.
- Muy interesante trabajar con estudiantes de otra nacionalidad.
- Dinámica de grupo interesante, discusión final
- Mejora de los conocimientos de bioquímica y de las habilidades lingüísticas
- La actividad promueve la cooperatividad entre estudiantes

En relación con **los aspectos a mejorar y los desafíos**, destacan:

- Incrementar el nº de alumnos americanos por grupo.
- Trabajar en grupos más pequeños
- En ocasiones es difícil expresar las ideas en otro idioma
- Se sugiere incrementar el contacto con los estudiantes americanos en otras actividades, como por ejemplo clases teóricas o presentaciones comunes
- Incrementar más el tiempo para el intercambio cultural (charla fuera de clase)

CONCLUSIONES

Creemos que el desarrollo del proyecto ha sido muy satisfactorio tanto para los alumnos como para los profesores.

Las etapas se han desarrollado conforme a lo previsto, y la fase en la que hemos contado con los estudiantes españoles y americanos se ha desarrollado de manera muy positiva. Los profesores teníamos cierta incertidumbre respecto a esta parte del proyecto, ya que no sabíamos cual iba a ser la respuesta de los diferentes estudiantes. El desarrollo del proyecto ha cumplido con creces nuestras expectativas, y por tanto los profesores valoramos muy positivamente esta experiencia. Como se ha comentado antes la valoración de los alumnos tanto de la USAL como de Wake Forest también ha sido muy positiva.

No obstante, hay espacio para la mejora, fundamentalmente en lo que respecta al tamaño y composición de los grupos, que idealmente deberían ser más pequeños, y a poder ser con un nº superior de alumnos americanos por grupo.

La contribución de la actividad al aprendizaje de la Bioquímica parece haber sido positiva, y los resultados académicos de los alumnos también han sido

satisfactorios como se indicó antes.

En resumen, a tenor de lo expuesto pensamos que la actividad ha sido muy positiva, lo que nos anima a implementarla e intentar mejorarla en el futuro.

ANEXOS

Anexo 1: Ejemplo de actividad realizada en el PID, Bioquímica I (caso 1)

Purification of an Enzyme.

A biochemist discovers a new nuclear enzyme that is expressed in different tissues. She develops an efficient spectrophotometric method to measure enzyme activity, which paved the way to undertake the laborious purification procedure.

STEP 1: The researcher measured enzyme activity in crude extracts obtained from different tissues (Table I), and decided to use kidney as biological source.

Table I

Tissue	Total protein (mg)	Total enzyme activity (Units)
skeletal muscle	10000	30000
heart	12000	33000
brain	2000	6000
liver	30000	100000
kidney	7500	100000
pancreas	3000	6000

Q1. Explain why the biochemist decided to use kidney over other tissues.

STEP 2: The researcher collected 10 Kg of cow kidneys from a slaughterhouse, and transported them on ice to the laboratory. Purification is carried out at 4°C in a cold-room. She homogenised the kidneys in buffer solution pH 7.2, containing 0.2M sucrose, always keeping the sample in a bucket of ice. Then, she centrifuged the homogenate 10 min at 500xg. She discarded the supernatant and continued the purification with the precipitated fraction.

Q2. What is in the precipitated fraction?

STEP 3: Next, the researcher resuspended the precipitate obtained in a buffer solution and added ammonium sulphate at a certain concentration. She centrifuged the solution and obtained a supernatant and a precipitate. The total amount of enzyme activity was 3000000 units in both fractions. The total amount of protein was 40000 mg and 4000 mg in the supernatant and precipitate respectively.

Q3. Explain the objective of this step. What fraction do you think that the researched picked to follow the purification? Explain

STEP 4: Next, the researcher passed the sample through a size-exclusion chromatography column. She collected 40 fractions, measured the absorbance at 280 nm, and decided to measure the enzyme activity only in fractions 5 to 25. After that she followed the purification with fractions 5 to 10.

Q4. Why the researcher did not measure the enzyme activity in some of the collected chromatography fractions?

Q5. Fractions 5-10 were selected to follow process. What does this tell us about the protein?

STEP 5: In the next step the sample is separated at pH=7 in a carboxymethyl cellulose (CM-C) column, a cation-exchange chromatography. The protein of interest remained bound to the column at pH 7.

Q6. What does this tell us about protein? What would you do to release protein from the chromatography column?

STEP 6: In the final step, the researcher uses an ATP-affinity chromatography column.

Q7. What would you do to release protein from this chromatography column?

STEP 7: With a small aliquot of some of samples, the researcher runs and stains a SDS-PAGE with Coomassie Blue (Figure 1).

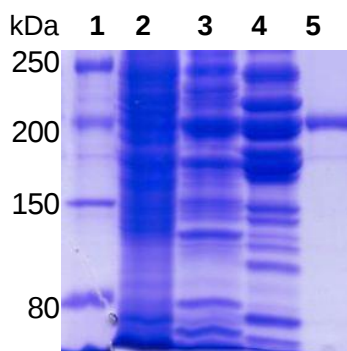


Figure 1. SDS-PAGE gel stained with Coomassie Blue. Lane 1: MW marker. **Lane 2:** kidney homogenate. **Lane 3:** 500xg precipitate. **Lane 4:** $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ precipitate. **Lane 5:** Sample obtained after ATP-affinity chromatography.

Q8. Would you consider that the enzyme is pure?

Q9. Complete the purification table below

Table II

Step	Total protein (mg)	Total enzyme activity units	Specific enzyme activity	% Yield	Purification factor
Kidney homogenate	20000	4×10^6	200	100	1
500xg precipitate	5000	3.5×10^6			
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ precipitation	4000	3×10^6			
Size-exclusion	200	1×10^6			
Ion-exchange	50	7.5×10^5			
ATP-Affinity	20	6.5×10^5			

(% Yield: percentage of total enzyme activity respect to the initial homogenate;

Purification factor: percentage of specific enzyme activity respect to the initial homogenate)

Q10. Which of the purification procedures used is most effective (i.e., gives the greatest relative increase in purity), and the least effective?

Inhibition of Alcohol Dehydrogenase

Focus concept

The function and inhibition of the alcohol dehydrogenase by a formamide compound is examined.

Prerequisites

- Principles of enzyme kinetics
- Identification of inhibition via Lineweaver-Burk plots

Background

Alcohol dehydrogenase (ADH) is the enzyme that is responsible for converting ethanol to acetaldehyde (the reaction is shown in **Figure 1**). It is the enzyme responsible for the metabolism of ethanol in the alcoholic beverages we consume.

Five different isozymes of ADH have been identified, and it has been shown that the enzyme has a rather broad substrate specificity (promiscuous enzyme with low substrate specificity) and can oxidize aldehydes as well as primary and secondary alcohols. For example, ADH can also oxidize methanol (wood alcohol) and ethylene alcohol (antifreeze). The poisonous nature of these compounds results from the ADH-catalyzed conversion of these compounds to toxic products. For example, **ADH converts methanol to formaldehyde**, which is toxic to the optic nerve and can produce blindness. In high doses, formaldehyde may be fatal.

In this study, it has been investigated the ability of **formamide compounds** to inhibit ADH.

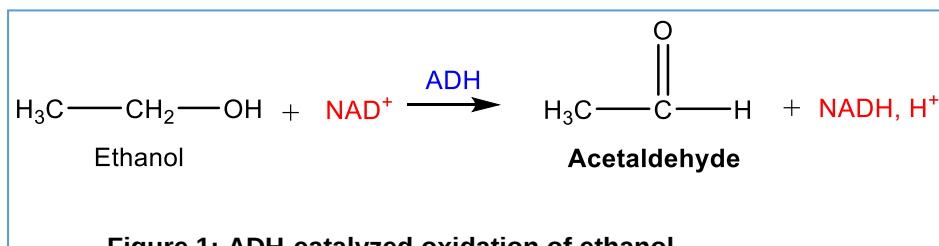


Figure 1: ADH-catalyzed oxidation of ethanol.

Questions

Q1. ADH requires the presence of a nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) molecule in order to catalyze the oxidation of an alcohol. NAD⁺ is converted to NADH and released,

Therefore, NAD⁺ is a..... of the reaction and NADH is a

- A. cofactor
- B. cosubstrate
- C. prosthetic group
- D. coenzyme
- E. coproduct

Q2. Additionally, like many enzymes, ADH requires a metal cation for catalysis, which in this case is zinc (Zn²⁺). Zn²⁺ is not altered by ADH, nor is it tightly bound to the enzyme. Which term best describes the role of Zn²⁺ in the reaction catalyzed by ADH?

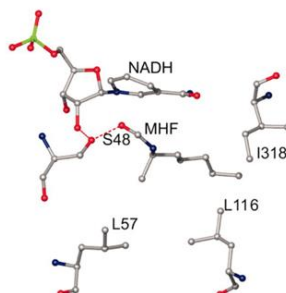
- A. cofactor
- B. cosubstrate
- C. prosthetic group
- D. coenzyme

Q3. The product of this reaction, acetaldehyde, is somewhat toxic to the human body and is likely responsible for some of the after effects of excessive drinking. This has led some to refer to acetaldehyde as the "hangover compound." Certain individuals are more sensitive to alcohol than others. For example, women are more sensitive to alcohol than men—even when body weight and % body fat are taken into account, women become more intoxicated than men consuming an identical amount of alcohol. **Based on enzyme properties**, give biochemical reasons that would explain why women become more intoxicated than men when consuming an equal amount of alcohol.

Q4. A treatment for methanol poisoning is to have the victim drink large amounts of ethanol. Why might this be an effective treatment?

Hint: Recall that the enzyme has a broad substrate specificity

It has been studied the ability of ***N*-1,5-dimethylhexylformamide** to **inhibit** mouse ADH1. In Figure 2, binding of the coenzyme NADH and the inhibitor (MHF) to the active site of the enzyme is shown.



The **Figure 2: Active site of horse liver ADH complexed with NADH and (*R*)-*N*-1-methylhexylformamide (MHF).** Top view of the active site with dashed lines indicating the hydrogen bonds.

mechanism of ADH has been described as an “**ordered bi-bi**” mechanism, or an ordered bisubstrate mechanism. The mechanism is diagrammed in Figure 3. **I** represents an **aldehyde analog (as formamides) acting as an inhibitor**.

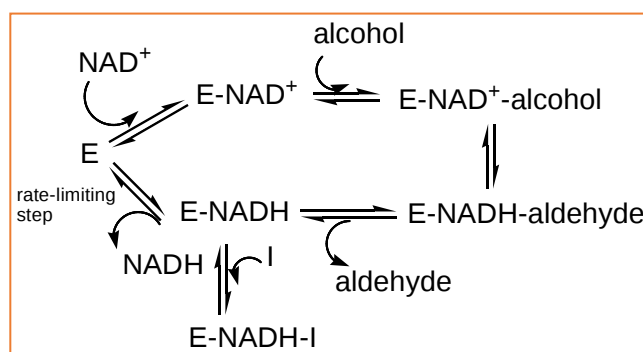


Figure 3: Mechanism of ADH1. The inhibitor binds as an aldehyde analog.

The activity of the enzyme was measured in the absence of inhibitor, and in the presence of 1.0 μM inhibitor. The data are presented in **Table 1**.

Table 1: Inhibition of mouse ADH1 by N,1-5-dimethylhexylformamide

Ethanol Concentration, mM	ADH1 velocity, ΔNADH absorbance/min (without inhibitor)	ADH1 velocity, ΔNADH absorbance/min (with inhibitor)
0.20	0.036	0.022
0.25	0.042	0.024
0.36	0.048	0.027
0.60	0.065	0.029
2.00	0.075	0.033

Q5.

a. Construct a **Lineweaver-Burk plot** using the above data. What are the K_M and $V_{\max}$ values for ADH in the absence of inhibitor? In the presence of the inhibitor?

b. What kind of inhibitor is N-1,5-dimethylhexylformamide? Explain your answer.

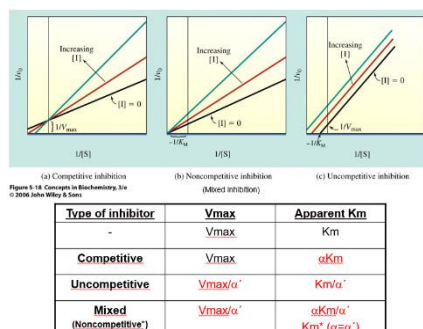
Hint: See Figures 2 and 3 and Table 2.

Q6. A class of compounds called **pyrazoles** were also inhibitors of ADH. These inhibitors bind to the E-NAD⁺ complex (see Figure 3). Kinetic studies in the presence of pyrazoles showed that $V_{\max}$ remained constant, but K_m increased. What kind of inhibitor are pyrazoles? Explain.

Q7. The compound **4-methyl pyrazole** is currently being used as a treatment for methanol poisoning. How would the effectiveness of 4-methyl pyrazole compare with the effectiveness of a formamide treatment? In other words, which compound would be more effective against ethanol, methanol or ethylene glycol poisoning?

Hint: Recall the differences between competitive and non-competitive inhibition.

Table 2: Types of reversible inhibition



Anexo 3: Encuesta final de satisfacción

SURVEY

UNIVERSITY: USAL / WF

Thank you for participating in our joint case-solving seminars!

Your feedback is valuable for improving future sessions. Please rate the following statements on a scale from 1 to 5, where:

1 (Strongly Disagree)

2 (Disagree)

3 (Neutral)

4 (Agree)

5 (Strongly Agree)

	1	2	3	4	5
1) The joint case-solving seminars provided a valuable opportunity to collaborate with students from a different cultural background.					
2) The case studies selected for the seminars were relevant and engaging.					
3) The mix of Spanish and American students enhanced the learning experience.					
4) The seminar structure (presentation, group discussions, etc.) was effective in promoting understanding of biochemistry concepts.					
5) The level of participation from both Spanish and American students was balanced.					
6) The instructors provided adequate guidance and support throughout the seminars.					
7) The seminars helped deepen my understanding of biochemistry concepts.					
8) The time allocated for each case study was appropriate.					
9) The group dynamics within the mixed teams were positive and productive.					
10) Discussion within the groups was effective in addressing the challenges posed by the case tasks					
11) Language barriers significantly hindered communication within the mixed groups.					
12) I felt comfortable expressing my ideas and opinions within the mixed groups.					
13) I would recommend these joint case-solving seminars to other students.					
14) Overall, I found the joint case-solving seminars to be a valuable addition to my learning experience in biochemistry.					

Please identify the most positive aspect or the greatest benefit you experienced during the joint case-solving seminars, or if you prefer, identify the most significant challenge or area for improvement.

Positive Aspect / Greatest Benefit:

Challenge / Area for Improvement: