



1. DATOS BÁSICOS DEL TFG:

Título: Diseño de un ensayo de cribado tipo ELISA con la metodología de phage display

Descripción general (resumen y metodología):

El ensayo inmunoenzimático de adsorción (ELISA) es una técnica ampliamente utilizada y versátil para la detección y cuantificación de biomoléculas. Su formato de placa de 96 pocillos y su relativa simplicidad lo hacen ideal para el cribado de alto rendimiento y la caracterización de interacciones moleculares *in vitro*. Si bien se ha utilizado tradicionalmente para la detección de anticuerpos y antígenos, sus principios pueden adaptarse para estudiar interacciones proteína-proteína directas. Este Trabajo de Fin de Grado propone la implementación y optimización de un formato de ELISA para estudiar interacciones específicas entre un péptido de secuencia corta y una proteína. En concreto, el ensayo ELISA propuesto está basado en fagos, lo que es conocido en bibliografía como phage-ELISA, que permite establecer si existe unión entre un fago que tiene un péptido expresado en su superficie con una proteína diana.

El trabajo a realizar será fundamentalmente de laboratorio. Aunque, de forma inicial, el/la estudiante deberá familiarizarse con la técnica a través de la bibliografía proporcionada por el profesor. Una vez tenga los conocimientos básicos, habrá tres tipos de experimentos que deberá realizar el estudiante. El primero consistirá en obtener y purificar la proteína diana con la que se hará el ensayo. Seguidamente, en segundo lugar, vendrá la parte más complicada de diseñar y fabricar (mediante biología molecular e ingeniería genética) un fago que exprese en su cápside un péptido que una a la proteína diana previamente purificada. Finalmente, el/la estudiante hará al menos dos replicados de un ensayo ELISA para poder establecer los parámetros de calidad de un ensayo de cribado de alto rendimiento, como el factor Z'.

Tipología: Estudio de casos, teóricos o prácticos, relacionados con la temática del Grado.

Objetivos planteados:

1. Obtener y purificar una proteína diana con las que cribar las bibliotecas de péptidos expresadas en fagos.
2. Diseñar genéticamente un fago que contenga un péptido control conocido que una a la proteína diana.
3. Hacer el ensayo ELISA en modo cribado masivo (high-throughput) con la proteína diana y el fago con el péptido control para establecer los parámetros de calidad del ensayo (factor Z').

Bibliografía básica:

Sidhu, S.S., Geyer, C.R. Phage Display In Biotechnology and Drug Discovery; Taylor & Francis Group, 2017.

Tonikian R., Zhang, Y., Boone C., Sidhu, S.S. Identifying specificity profiles for peptide recognition modules from phage-displayed peptide libraries. Nature Protocols, 2007, Vol. 2 N. 6, 1368-1386.

Clakson, T., Lowman, H.B. Phage Display. A practical approach; Oxford University Press, 2004.

Zhang, J., Chung, T., Oldenburg, K.R. A simple statistical parameter for use in evaluation and validation of high throughput screening assays. Journal of Biomolecular Screening, 1999, Vol. 4, N. 2, 67-73.

Recomendaciones y orientaciones para el estudiante:

Se recomienda que el estudiante conozca algunos fundamentos básicos de ingeniería genética y de la metodología de phage display (o expresión en fagos). Es oportuno que el estudiante sea consciente de la relevancia del phage display, ya que los inventores de esta metodología recibieron

el premio Nobel de química en 2018. Para familiarizarse con dicha técnica y con la ingeniería genética, es interesante que lea la bibliografía recomendada (sobre todo el artículo de Nature Protocols de 2007, que será el que se siga durante el desarrollo del trabajo experimental). En todo caso, el profesor explicará y guiará al estudiante en ambas disciplinas.

Plazas: 1

2. DATOS DEL TUTOR/A:

Nombre y apellidos: JAVIER MURCIANO CALLES

Ámbito de conocimiento/Departamento: QUÍMICA FÍSICA

Correo electrónico: jmurciano@ugr.es

3. COTUTOR/A DE LA UGR (en su caso):

Nombre y apellidos:

Ámbito de conocimiento/Departamento:

Correo electrónico:

4. COTUTOR/A EXTERNO/A (en su caso):

Nombre y apellidos:

Correo electrónico:

Nombre de la empresa o institución:

Dirección postal:

Puesto del tutor en la empresa o institución:

Centro de convenio Externo:

5. DATOS DEL ESTUDIANTE:

Nombre y apellidos:

Correo electrónico: