

### **1) Supuesto práctico 1:**

Se quiere estudiar *in vitro* la estabilidad, estado oligomérico y actividad quinasa de una proteína humana con un peso molecular de 50 kDa y un punto isoeléctrico de 5.1. El enzima es capaz de fosforilar un sustrato específico "A" y el análisis preliminar de su secuencia sugiere que es una proteína estructurada. Estudios previos mostraron la expresión de la proteína en cultivos bacterianos, aunque no comprobaron si era activa.

Desarrolla una estrategia para expresar y purificar la proteína, y describe brevemente qué métodos utilizarías para caracterizar su estabilidad y estado oligomérico. Por último, explica qué tipo de ensayos realizarías para caracterizar los parámetros cinéticos de la proteína. En la medida de lo posible, haz una evaluación de riesgos de los experimentos propuestos y sugiere planes de contingencia.

### **2) Supuesto práctico 2:**

Se quiere determinar la estructura tridimensional de un complejo formado por dos proteínas bacterianas denominadas A y B. La proteína A tiene una masa molecular de 40 kDa y existe en solución en forma hexamérica. Por otro lado, la proteína B tiene 20 kDa, forma homotrímeros y se conoce que regula la actividad de la proteína A. Se ha descrito también que ambas proteínas se regulan por la unión de ligandos de pequeño tamaño. No disponemos de información sobre la estequiometría del complejo. Se dispone de un método de producción de la proteína A, pero no de la proteína B. El análisis preliminar de secuencia indica que la proteína B es rica en regiones estructuradas, aunque la región C-terminal de 40 aminoácidos parece estar desordenada.

Desarrolla una estrategia para producir el complejo de las proteínas A y B y para caracterizar su estructura tridimensional. En la medida de lo posible, haz una evaluación de los riesgos de la estrategia principal y propón planes de contingencia.