

Datos básicos de la asignatura

Titulación:	Máster Universitario en Investigación Biomédica
Año plan de estudio:	2015
Curso implantación:	2015-16
Centro responsable:	Escuela Internacional de Posgrado
Nombre asignatura:	Introducción a Técnicas de Biología Molecular
Código asignatura:	51610023
Tipología:	OPTATIVA
Curso:	1
Periodo impartición:	Cuatrimestral
Créditos ECTS:	4
Horas totales:	100
Área/s:	Fisiología
Departamento/s:	Fisiología Médica y Biofísica

Objetivos y competencias

1. Iniciar al estudiante en el manejo de técnicas experimentales de biología molecular usadas comúnmente para analizar ácidos nucleicos y proteínas
2. Aprender a purificar, cuantificar y visualizar los ácidos nucleicos y proteínas a partir de células de mamífero.
3. Comprender a nivel práctico conceptos tales como: retrotranscripción, RT-PCR, primers o cebadores, secuenciación, análisis de mutaciones, expresión génica
4. Conocer técnicas para la separación, cuantificación, identificación y caracterización de proteínas

Competencias transversales:

Que el estudiante:

- Conozca y sepa utilizar las fuentes de información científica y hacer una búsqueda bibliográfica
- Sepa comunicar de forma oral, escrita y gráfica los conocimientos adquiridos.
- Sea capaz de realizar una revisión bibliográfica sobre un tema determinado.

- Sea capaz de realizar una presentación oral.
- Sea capaz de utilizar de forma racional los conocimientos para que le sean útiles y pueda aplicarlos a la resolución de problemas.
- Sea capaz de trabajar en equipo.

Competencias específicas:

Que el estudiante:

- Sea capaz de entender los protocolos y términos de Biología Molecular mas usados en la literatura científica del campo.
- Sea capaz de comprender la adecuación de los protocolos experimentales al objetivo experimental que se busca.
- Sea capaz de plantearse experimentos concretos para abordar una pregunta científica enmarcada en el campo de la Biología celular y molecular

Contenidos o bloques temáticos

Teoría

- Introducción al curso.
- Conceptos generales sobre el ADN, ARN y proteínas. Técnicas tradicionales y nueva tecnología para su análisis

Clases prácticas

- Introducción al uso del material de laboratorio
- Conocer los procedimientos, tecnología y equipo para la extracción de ADN, ARN y proteínas desde muestras biológicas.
- Entender las bases de la técnica de Transcripción Reversa seguida de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR). Familiarizarse con el equipo y conocer las múltiples aplicaciones de la técnica

- Familiarizarse con las técnicas de electroforesis usadas en la separación, identificación y purificación de ADN, RNA y proteínas
- Conocer plataformas disponibles para el desarrollo de estudios de genotipado de SNPs, secuenciación de DNA, estudios de expresión de RNA y estudios de metilación.
- Conocer técnicas de electroforesis bidimensional, cromatografía líquida multidimensional y espectrometría de masas especializada en separación, cuantificación, identificación y caracterización de proteínas en sistemas de interés biológico y biomédico.

ORGANIGRAMA:

Prácticas: LUM

Día 1: (LUM) (4,5 horas)

- Introducción al Servicio de Apoyo a la Investigación del IBIS: Laboratorio de Usos Múltiples
- Extracción de ADN desde muestras de sangre mediante estación automatizada (QIACUBE) y cuantificación de ADN (Nanodrop 2000)
- Amplificación de ADN por la PCR cualitativa (Termociclador Biometra), para amplificar una región que contenga un SNPs con una heterocigosidad cercana al 50%.
- Explicación de resultados sobre un estudio de Genotipado en cohorte de pacientes mediante la PCR cuantitativa (Vii7/Quant Studio 12K)

DÍA 2: GENÓMICA (4,5 horas)

- Hacer gel de agarosa
- Cargar la PCR para visualizar el ADN
- Purificar ADN a partir del gel de Agarosa
- Realizar reacción de Secuenciación (O/N).

Día 3: (GENOMICA/LUM) (4,5 horas)

- Purificación de la reacción de secuenciación.
- Inyección de las muestras en el secuenciador.
- Breve descripción de otras tecnologías disponibles en el Servicio de Genómica y Secuenciación
- Análisis de los resultados obtenidos en la secuenciación realizada.
- Extracción de ARN desde muestras de sangre mediante estación automatizada (QIACUBE) y cuantificación de ARN (Nanodrop 2000)
- Explicación de resultados sobre un estudio de expresión de genes en cohorte de pacientes mediante la PCR cuantitativa (Viia7/Quant Studio 12K)

DÍA 4: PROTEINAS (4,5 horas)

- Analizaremos los métodos inmunohistoquímicos para el análisis de expresión de proteínas en corte histológico de tejidos humanos mediante el uso de anticuerpos primarios no marcados y la detección posterior con anticuerpos secundarios marcados con peroxidasa.
- Realizaremos la detección de la reacción antígeno anticuerpo (proteínas del tejido y anticuerpos específicos contra dichas proteínas) mediante la detección con diaminobencidina y visualización de dicha reacción en un microscopio de campo claro.
- Realizaremos el repaso de los diferentes métodos de detección, enzimática y fluorescente así como los diferentes métodos de detección de proteínas en cortes histológicos tanto preservados en congelación como tras fijación tisular con paraformaldehído e inclusión del tejido en parafina. Repasaremos también la detección de proteínas en extractos tisulares y celulares mediante la técnica de western blot. Analizaremos los diferentes métodos de lisis de proteínas en tejidos congelados y en botones celulares así como los diferentes métodos de detección luminiscente con anticuerpos primarios no marcados y secundarios marcados con peroxidasa. - Repasaremos el método de separación de dichas proteínas en geles de acrilamida mediante electroforesis y posterior transferencia de las proteínas a membranas de nitrocelulosa.

- Realizaremos la detección de proteínas de citoesqueleto, proteínas de la membrana celular y proteínas nucleares mediante los anticuerpos específicos. Para ello usaremos cuatro anticuerpos primarios, los anticuerpos secundarios apropiados y el sistema de detección EnVision (DAKO).

Actividades formativas y horas lectivas

Actividad	Horas
B Clases Teórico/ Prácticas	2
E Prácticas de Laboratorio	18

Metodología de enseñanza-aprendizaje

a. Clase Teórica. Será de asistencia obligatoria. En esta clase se expondrán los principios básicos del curso como punto de partida para el entendimiento posterior de los conocimientos que se impartirán en las sesiones prácticas. Los alumnos podrán intervenir para solicitar aclaraciones. De igual modo, el profesor hará preguntas a los estudiantes para conocer el grado de seguimiento y fomentar la participación en clase.

b. Clases Prácticas. Serán de asistencia obligatoria. Se realizarán en sesiones cada una con una duración aproximada de cuatro y media horas. Cada procedimiento experimental es precedido de una explicación de las bases y fundamentos teóricos necesarios para entender el protocolo a realizar. Dada la naturaleza práctica del curso, los alumnos aprenden viendo directamente al profesor realizar con sus manos las distintas maniobras experimentales y luego permitiendo que cada uno individualmente o en grupo repita lo que le han enseñado. El número reducido de estudiantes por grupo (un máximo de cinco) permitirá una gran interacción profesor-alumno que propicie la observación directa, discusión fluida y aclaración de preguntas sobre lo que se está haciendo.

La evaluación de los conocimientos adquiridos tanto en las clases prácticas como en las teóricas se realizará mediante una prueba final escrita.

Sistemas y criterios de evaluación y calificación

Evaluación final: Para la calificación final se tendrán en cuenta:

- i) La nota del examen o prueba final



UNIVERSIDAD
DE SEVILLA

PROGRAMA DE LA ASIGNATURA

Introducción a Técnicas de Biología Molecular

ii) El aprovechamiento y participación en las clases teóricas y prácticas

Se realizará UN EXAMEN FINAL, con objeto de valorar el nivel global de consecución de los objetivos previstos.

El examen final tendrá un valor de 10 puntos y consistirá en preguntas de selección múltiple, con 4 opciones, cada tres respuestas incorrectas restarán una correcta. En esta prueba se valorarán todas las actividades presenciales realizadas en clases teóricas y clases prácticas.

En la nota final por curso de cada alumno, se valorarán todas aquellas actividades docentes en las que cada uno haya participado. Tendrán derecho a los exámenes extraordinarios los alumnos matriculados en la asignatura, que cumplan los requisitos recogidos en la Normativa Reguladora de Exámenes, Evaluación y Calificaciones.