

PROGRAMA DE LA ASIGNATURA

Curso académico ...2011-2012.....

Identificación y características de la asignatura				
Denominación	INTRODUCCIÓN A LA EXPERIMENTACIÓN EN GENÉTICA		Código	
Créditos (T+P)	4+2			
Titulación	Biología			
Centro	Facultad de Ciencias			
Curso	4º	Temporalidad	2º cuatrimestre	
Carácter	Obligatorio			
Descriptores (BOE)				
Profesor/es	Nombre	Despacho	Correo-e	Página web
	Elena Guzmán Cabañas	DG1 (Edificio Biología)	eguzman@unex.es	http://genuex.unex.es
Área de conocimiento	Genética			
Departamento	Bioquímica y Biología Molecular y Genética			
Profesor coordinador (si hay más de uno)				

Objetivos y/o competencias

En esta asignatura se pretende que el alumno se familiarice con las técnicas básicas de Genética Molecular mediante su aplicación dentro de la investigación de un área concreta, asimilando de esta manera el desarrollo del método científico.

Competencias

1. Adquirir conceptos básicos y procedimientos propios de la Genética Molecular
2. Adquirir capacidad de análisis, interpretación, valoración, discusión y comunicación de los datos procedentes de los experimentos genéticos.
3. Desarrollo de la capacidad de aplicación del método científico
4. Capacidad de diseño de experimentos
5. Manipulación de material biológico
6. Aprendizaje de técnicas de análisis genético
7. Uso de aplicaciones informáticas para el estudio de biomoléculas.
8. Presentación de un trabajo científico.

Temas y contenidos

(especificar prácticas, teoría y seminarios, en su caso)

PROGRAMA DE TEORÍA

Parte I: Experimentación en el ciclo celular bacteriano

1. ANÁLISIS DEL CRECIMIENTO BACTERIANO. Medios de cultivo. Obtención de un cultivo equilibrado. Función de la velocidad de crecimiento. Medida de la masa (OD), nº de células/ml y síntesis de DNA, RNA proteínas. Acumulación vs cinética.

2. CICLO CELULAR BACTERIANO. Ciclo celular bacteriano: periodo B, periodo C, periodo D. Distribución de edades en un cultivo bacteriano. Tiempo de inicio y terminación de la replicación dentro del ciclo.

3. LA REPLICACIÓN EN EL CICLO CELULAR. Solapamiento de ciclos. Ciclos de replicación por cromosoma. DNA por cromosoma y por célula. Síntesis de DNA tras inhibir el inicio de replicación. Valor de incremento de G (DG). Interpretación de DG. Análisis de Bremer.

4. FRECUENCIA DE MARCADORES. Número de copias de un gen por cromosoma. Análisis del movimiento de la horquilla de replicación. Variaciones en la frecuencia de marcadores. Análisis de frecuencia de marcadores por Southern blot.

5. CROMOSOMAS Y NUCLEOS: CITOMETRÍA DE FLUJO Y MICROSCOPIA. El citómetro de flujo. Interpretación de la citometría. Microscopía de fluorescencia: FISH y tinción con DAPI. Número de cromosomas/núcleos por célula. Proporción de células antes y después de ti. Número de orígenes de replicación por célula. Determinación del periodo D. Asincronía en la iniciación. Cromosomas no acabados.

Parte II: Experimentación en genómica

6. SELECCIÓN DE MUTANTES. Obtención de mutantes. Mutación espontánea y mutación inducida. La colonia como unidad de búsqueda de fenotipos mutantes. Mutantes condicionales en la maquinaria celular: Mutantes en replicación: "históricos", *seqA*, *hobH*, *iciA*. Mutantes en reparto: *mukA*. Mutantes en regulación de la replicación: Cop.

7. CLONACIÓN. Estrategia general. Vectores. Aislamiento de plásmidos: gradiente de CsCl+EtBr y minipreparaciones. Aislamiento del fago I. El fago M13. Uso de las enzimas de restricción. Electroforesis en gel de agarosa. Aislamiento de DNA a partir de agarosa. Ligamiento. Obtención de células competentes. Electroporación v.s. Ca₂Cl.

8. UTILIDADES DE LA CLONACIÓN. Secuenciación del gen, mutación dirigida, estudio del efecto de la sobreexpresión, estudio de la expresión génica. Creación de proteínas de fusión: GFP. Análisis de unión a secuencias específicas: footprinting. Análisis de curvatura en secuencias específicas de DNA. Análisis de la interacción de proteínas.

9. MUTAGÉNESIS DIRIGIDA. Uso de las enzimas de restricción, Klenow y nucleasas. Cambios específicos introducidos por oligonucleótidos: uso de M13, plásmidos especiales.

10. PCR Y Q-PCR. Elementos esenciales de la PCR. Condiciones. Sistemas de cuantificación. Aplicaciones.

11. INTRODUCCIÓN DE MUTACIONES EN EL CROMOSOMA. Uso del fago I, plásmidos especiales y transformación con DNA lineal. Verificación de la mutación por Southern blot. Marcaje de la sonda: PCR, random primer y nick translation. Radiactividad, quimioluminiscencia y fluorescencia.

12. MAPEO GENÉTICO, FÍSICO Y MOLECULAR. Mapeo de mutaciones por recombinación. Obtención de marcadores aleatorios: uso de transposones. Conjugación. Transducción: uso del fago P1 y análisis de la frecuencia de cotransducción. Complementación. Mapa físico y molecular. Banco de genes de *E. coli*. Secuenciación: el genoma de *E. coli*. Consecuencias de estos trabajos.

Prácticas

Análisis del ciclo celular bacteriano. En esta práctica aplicaremos los conceptos aprendidos en clase y determinaremos el tiempo de generación, el periodo C (replicación) y el periodo D (división) de la estirpe de *E. coli* MG1693 creciendo en diferentes condiciones de cultivo.

El alumno invertirá dos tardes en la realización de la práctica, mas el tiempo necesario para el análisis de los resultados. El análisis de los resultados deberá ser presentado en base a los criterios establecidos durante la realización de la práctica.

Criterios de evaluación

1. El examen escrito se dividirá en 5 o más preguntas/problemas relacionadas con la materia impartida por el profesor. Para aprobar deberá igualar o superar los cinco puntos.
2. Al finalizar la Parte I del temario se realizará un examen con una puntuación máxima de 1 punto. La puntuación obtenida por el alumno constituirá una sobrenota que se sumará a la puntuación obtenida en el examen correspondiente a la asignatura siempre que haya sido igual o superior a 4.
3. Los resultados de la práctica se presentarán al final del curso y antes de realizar el examen de la asignatura. La puntuación recibida por este trabajo será 1 punto como máximo. La puntuación será sumada a la nota obtenida en el examen de la asignatura siempre que haya sido igual o superior a 4.

Bibliografía

JIMENEZ SANCHEZ A. Y R. GUERRERO. 1982. Genética Molecular Bacteriana. Ed. Reverté.

JIMENEZ SANCHEZ A. Y JIMÉNEZ MARTÍNEZ J. 1998. Genética Microbiana. Síntesis.

NEIDHARDT F. 1996. Escherichia coli and Salmonella typhimurium. Cellular and Molecular Biology. American Society of Microbiology.

SAMBROOK J., E. F. FRITSCH, T. MANIATIS. 1989. Molecular Cloning. CSH.

SHAPIRO H.M. 1995. Practical Flow Cytometry. Wiley-Liss.

TORMO GARRIDO, A. 1998. Problemas de Genética Molecular. Ed. Síntesis.

ZYSKIND J. W. Y S. I. BERNSTEIN. 1992. Recombinant DNA Laboratory Manual. Acad. Press.

Puntualmente se utilizarán webs de casas comerciales como BioRad, Molecular Probes.

Tutorías

	Horario	Lugar
Lunes	12.00-14.00	Despacho DG1 (Edificio Biología)
Martes	12.00-14.00	Despacho DG1 (Edificio Biología)
Jueves	12.00-14.00	Despacho DG1 (Edificio Biología)