

## PROGRAMA DE LA ASIGNATURA

\*\*\*\*  
Curso académico 2012/13

Identificación y características de la asignatura				
Denominación	Introducción a la Experimentación en Microbiología		Código	
Créditos (T+P)	4T+ 3P			
Titulación	Licenciatura en Biología			
Centro	Facultad de Ciencias			
Curso	Quinto	Temporalidad	Cuatrimestral	
Carácter	Troncal			
Descriptor (BOE)				
Profesor/es	Nombre	Despacho	Correo-e	Página web
	Jaime Correa Bordes	Edif. Juan Remón Camacho. Planta Baja	jcorrea@unex.es	
Área de conocimiento	Microbiología			
Departamento	Ciencias Biomédicas			
Profesor coordinador (si hay más de uno)				

### **OBJETIVOS Y/O COMPETENCIAS**

El objetivo de esta asignatura es iniciar a los alumnos en la investigación en Microbiología, incitándoles a diseñar e interpretar experimentos, utilizando el control de la división celular como hilo conductor del curso. Para elaborar el temario se han elegido experimentos claves de los últimos 30 años en los que se han utilizado microorganismos como sistemas modelo que se presentan a los alumnos en formato Powerpoint, disponibles en el campus virtual de la asignatura. Tras discusiones en pequeños grupos, los alumnos tienen que sacar las conclusiones de los experimentos y ser capaces de exponer sus ideas en público para ir construyendo los modelos de regulación del ciclo celular. Al final de cada tema se resumen las conclusiones obtenidas mediante una figura en la que el profesor repasa los conceptos abordados. En el último tema, se pretende extrapolar los conocimientos adquiridos en los modelos de levaduras a las células animales y su relación con el cáncer.

## TEMAS Y CONTENIDOS

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

**Tema 1: Introducción.** Fases del ciclo celular. Experimentos de fusión celular. Conceptos de MPF y SPF. Mecanismos de Checkpoint. Eventos importantes durante el ciclo celular. Coordinación entre crecimiento y ciclo celular.

En este primer tema se introducen las fases del ciclo celular (G1, S, G2 y M) así como los conceptos que vamos a profundizar a lo largo del curso como son el SPF, MPF y las relaciones de dependencia (orden) entre las diferentes fases. Los alumnos serán capaces de inferir estos conceptos a partir de los experimentos de fusión celular, mediante la discusión en pequeños grupos y posterior puesta en común. También se reflexionará sobre la importancia de coordinar el crecimiento y el ciclo celular en la fisiología celular.

**Tema 2. Levaduras como sistemas modelo.** Ciclo de vida de *Saccharomyces cerevisiae* y *Schizosaccharomyces pombe*. Mutantes *cdc*. Técnicas usadas en el estudio del ciclo celular: Citometría de flujo. Sincronización de cultivos: elutriación, uso de drogas (Hidroxiurea, nocodazol).

En este tema se introducen las levaduras como sistemas modelos de estudio del ciclo celular y se resalta la importancia de los trabajos de Lee Harwell y Paul Nurse (premios Nobel de Medicina en 2001). Además de introducir el concepto del fenotipo *cdc*, se explican una serie de técnicas muy utilizadas en la investigación del ciclo celular que serán de gran ayuda al estudiante para poder comprender los experimentos que tendrán que discutir a lo largo del curso.

**Tema 3. Control de la transición G2/M. Aproximación bioquímica.** Desarrollo de *Xenopus*. Maduración de oocitos. Descubrimiento del MPF. Actividad del MPF durante el ciclo meiótico y mitótico de *Xenopus*. Descubrimiento de las ciclinas. Importancia de la síntesis de ciclinas en el inicio de la mitosis: concentración umbral y regulación post-traducciona. Modelo del control de mitosis.

El objetivo de este tema consiste en identificar los principales reguladores que controlan el inicio de la mitosis. Este tema está basado en los trabajos que fueron galardonados con el Premio Nobel de Medicina de 2001. Se pretende que los alumnos sean capaces de proponer un modelo de regulación de la mitosis mediante la discusión de experimentos claves de los últimos 30 años utilizando una aproximación bioquímica (*Xenopus*, Tema 3) y genética (*Schizosaccharomyces pombe*, Tema 4).

**Tema 4: Control de la transición G2/M. Aproximación genética.** Concepto de genes reguladores. Fenotipo *wee*. Mutantes de *S.pombe* implicados en el control de la mitosis: *cdc2*, *cdc25* y *wee1*. Clonación del CDC2 humano. Regulación de *cdc2* mediante fosforilación: Interruptores moleculares. Osciladores moleculares. Las Cdk's son osciladores moleculares. Función de *mik1* en el control de *cdc2*. Modelo final del inicio de mitosis.

Tras identificar el MPF en *Xenopus*, Tema 3, se pretende identificar los reguladores más importantes de la mitosis en la levadura *S. pombe*. Basándose en experimentos genéticos, los alumnos serán capaces de proponer un mecanismo de regulación de Cdc2 mediante la quinasa Wee1 y la fosfatasa Cdc25. Basándose en los resultados de estos dos últimos temas, se propone un mecanismo general de regulación de la mitosis en células eucariotas mediante las Cdk's (quinasas dependientes de ciclina). Por último, se explican las características de sistema bimodal que posee la regulación de las Cdk's que les permiten actuar como osciladores moleculares.

**Tema 5. Proteólisis y salida de mitosis. Sistemas de ubiquitinación. Proteólisis y ciclo celular. Complejo promotor de anafase (APC). Transición metafase/anafase. Estudio de la degradación de ciclinas en G1. Función de Cdc20 y Cdh1. Cohesinas. Regulación de Scc1 mediante la securina y separasa. Regulación de la Inactivación del APC. Resumen.**

En este tema se discuten los experimentos que pusieron de manifiesto la importancia de la degradación de proteínas en la salida de mitosis. Tras una introducción sobre ubiquitinación, se resalta la importancia de la E3-ligasa APC (Complejo Promotor de Anafase) en la degradación de las ciclinas y securinas. Mediante la discusión de experimentos, los estudiantes serán capaces de proponer un modelo sobre la regulación de ciclinas durante la mitosis y G1. Por último, se discutirá el modelo de la regulación de la securina y su importancia en la transición metafase-anafase.

**Tema 6. Control de la transición G1/S. Características de G1. Identificación de las Cdk de G1: CDC28 y CLN1-3. Control transcripcional: regulación de SBF y MBF. Regulación de G1/S mediante proteólisis: Sic1p y Cln2p. Resumen.**

En este tema se resalta la importancia del control de G1 en la respuesta de la célula, tanto a señales externas (factores de crecimiento, feromonas, nutrientes) como internas (tamaño). Se estudia la importancia de la Cdk de G1 en el control transcripcional de G1 y en la degradación de Sic1 (Cdi) y las ciclinas de G1 Cln2 y Cln1. Por último, se integran todos los conceptos del tema 5 y 6 en un modelo sobre el control de la transición G1/S del ciclo celular

**Tema 7. Control de la replicación del DNA. Introducción. Orígenes de replicación. Importancia del número de orígenes de la evolución de genomas. Complejo de Reconocimiento de Orígenes (ORC). Modelo para limitar una fase S por ciclo celular. Importancia de Cdc6 en los pre-RC. Proteínas MCMs. Control de los orígenes mediante Cdk. Modelo final.**

El objetivo de este tema es comprender como se regula la replicación del DNA en células eucariotas. Se presentarán los experimentos pioneros que explican que la replicación del DNA tenga lugar una sola vez por ciclo celular. Por último, se pondrá de manifiesto la importancia de la Cdk mitótica en el control de los orígenes de replicación.

**Tema 8. Mecanismos de control: Checkpoints. Tipos y componentes. Estudio del checkpoint activado por hidroxurea (HU). Efecto de la HU sobre la viabilidad de cdc2F15. Importancia de Chk1 y rad24. Modelo final.**

En este tema se pretende introducir los mecanismos de control, o "checkpoints", que garantizan que la información genética se transmita con fidelidad durante la mitosis. Como ejemplo, se profundizará en el mecanismo de checkpoint de daño al DNA en *Schizosaccharomyces pombe*. También se resalta la inestabilidad genómica presente en células cancerosas como consecuencia de la pérdida de estos mecanismos de control.

**Tema 9. Cáncer. Introducción. Etapas en el desarrollo del tumor. Evolución clonal del cáncer. Subpoblaciones celulares en tumores. Mutación y cáncer: oncogenes, genes supresores de tumores y genes de checkpoint. Características de una célula cancerosa. Regulación de G1/S y cáncer: a) ruta de Rb; b) ruta de p53. MDM2: ruta de compensación de la vía de Rb. Ciclo de rotura y fusión de cromosómica. Nuevas estrategias en el tratamiento del cáncer.**

En este tema se aplicarán los conceptos adquiridos en los temas anteriores para explicar brevemente las bases moleculares del cáncer, así como nuevos conceptos emergentes sobre las células madre tumorales.

## Programa de Practicas.

OBJETIVOS: Se pretende que el alumno se familiarice con las técnicas más comunes en biología molecular de levaduras.

Práctica 1. Presentación de la base de datos del genoma de *C. albicans* (CGD).

Practica2. Diseño de oligonucleótidos para la modificación genética de levaduras.

Practica 3.	Generación de mutantes de <i>C. albicans</i> mediante PCR. Comprobación del proceso de integración.
Práctica 4.	Análisis mediante Western-blot de transformantes obtenidos.
Práctica 5.	Microscopía de fluorescencia con proteínas de fusión a GFP.

## BIBLIOGRAFIA Y OTROS RECURSOS

Debido a lo peculiar de la asignatura no existen libros de texto que recomendar ya que el temario se ha realizado a partir de figuras de artículos publicados en revistas científicas. En la página del aula virtual de la asignatura existen varios PDFs en inglés con revisiones muy reciente de diferentes temas abordados a lo largo del curso. No obstante, existen dos libros donde pueden repasar los conceptos generales.

**The Cell Cycle: Principles of Control** By [David O Morgan](#). (2006). Ed. New Science Press. Es un libro muy bueno y actualizado que da una Buena visión sobre el control del ciclo celular. Además es muy barato si lo compras por internet (42\$). Recomendable!!!!

**The Biology of Cancer** By Robert A. Weinberg, (2006) Ed. Garland Science. Un libro de texto excelente sobre la biología molecular del Cáncer. Recomendable para aquellos que quieran tener en su biblioteca un buen libro sobre un tema tan actual.

Otros libros de interés general para biólogos que recomiendo son:

**La historia más bella del mundo.** Ed Anagrama (Colección Argumentos) 1997. Libro muy ameno donde tres científicos (un astrofísico, un biólogo y un antropólogo) son entrevistados por una periodista y explican respectivamente, el origen del universo, de la vida en la Tierra y de la especie humana.

**Reconstruyendo a Darwin.** Javier Sampedro. Ed Drakontos bolsillo. 2007. Un libro muy clarito y ameno en la que se repasan las teorías de la evolución con un estilo muy directo y simple a la luz de los nuevos descubrimientos sobre la biología molecular del desarrollo animal. Muy recomendable para cualquier biólogo.

**Las fronteras de la vida.** John Postgate. Ed. Drakontos. Crítica. 1995. Un libro recomendable para todos aquellos a los que no les haya gustado la microbiología. Es un libro lleno de anécdotas, escrito con un lenguaje muy sencillo y ameno sobre la importancia de los microorganismos para la vida en el planeta Tierra.

### CRITERIOS DE EVALUACION

Se realizará mediante un examen con las siguientes secciones:

- a)** 50 preguntas tipo test (verdadero/falso). Tres preguntas mal contestadas tendrán un valor negativo equivalente al de dos acertadas. Las preguntas no contestadas no tienen penalización.
- b)** 6 preguntas de respuesta corta
- c)** Elaboración de un diseño experimental para la consecución del objetivo propuesto en el planteamiento.

El valor máximo de cada una de las secciones será la siguiente:

- a) 5 puntos
- b) 3 puntos
- c) 2 puntos



### **RECOMENDACIONES PARA EL ESTUDIO**

Asistir a las clases, ya que es muy importante entender y discutir en grupos los conceptos que se explican. Los alumnos que sólo estudian los apuntes suelen tener más problemas a la hora de aprobar el examen ya que las preguntas del examen están diseñadas para evitar responder de memoria sin haber entendido los conceptos.

<b>Tutorías (primer cuatrimestre)</b>		
	Horario	Lugar
Lunes	12 a 14	Despacho ubicado en planta baja del Edificio Juan Remón Camacho
Martes		
Miércoles	12 a 14	Despacho ubicado en planta baja del Edificio Juan Remón Camacho
Jueves	12 a 14	Despacho ubicado en planta baja del Edificio Juan Remón Camacho
Viernes		

<b>Tutorías (segundo cuatrimestre)</b>		
	Horario	Lugar
Lunes	12 a 14	Despacho ubicado en planta baja del Edificio Juan Remón Camacho
Martes		
Miércoles	12 a 14	Despacho ubicado en planta baja del Edificio Juan Remón Camacho
Jueves	12 a 14	Despacho ubicado en planta baja del Edificio Juan Remón Camacho
Viernes		