

PLAN DOCENTE DE LA ASIGNATURA¹

Curso académico: 2021/2022

Identificación y características de la asignatura			
Código	502725	Créditos ECTS	6
Denominación (español)	Técnicas Instrumentales Avanzadas		
Denominación (inglés)	Advanced Instrumental Techniques		
Titulaciones	Grado en Bioquímica		
Centro	Facultad de Veterinaria		
Semestre	5	Carácter	Obligatoria
Módulo	4. Métodos Instrumentales		
Materia	Técnicas Instrumentales		
Profesor/es			
Nombre	Despacho	Correo-e	Página web
Teoría: Campo Guinea, María Luisa	Despacho 13 (Edificio Bioquímica)	mlcampo@unex.es	http://www.unex.es/conoce-la-unex/estructura-academica/centros/veterinaria/centro/profesores
Corraliza Generelo, Inés	Despacho 29 (Edificio Bioquímica)	corragen@unex.es	
Fuentes Rodríguez, José Manuel	Despacho 3 (Anexo Investigación, Facultad de Enfermería y TO)	jfuentes@unex.es	
González Fernández, Lauro	Despacho 1D10 (Institutos Investigación)	lgonfer@unex.es	
Quesada Molina, Alberto	Despacho 30 (Edificio Bioquímica)	aquesada@unex.es	
Prácticas: Fuentes Rodríguez, José Manuel	Despacho 3 (Anexo Investigación Facultad de Enfermería y TO)	jfuentes@unex.es	
González Fernández, Lauro	Despacho 1D10 (Institutos Investigación)	lgonfer@unex.es	

¹ En los casos de planes conjuntos, coordinados, intercentros, pceos, etc., debe recogerse la información de todos los títulos y todos los centros en una única ficha.

Área de conocimiento	Bioquímica y Biología Molecular
Departamento	Bioquímica y Biología Molecular y Genética
Profesor coordinador	Lauro González Fernández

Competencias²

Competencias Básicas

CB1. Que los estudiantes hayan demostrado poseer y comprender conocimientos en un área de estudio que parte de la base de la educación secundaria general, y se suele encontrar a un nivel que, si bien se apoya en libros de texto avanzados, incluye también algunos aspectos que implican conocimientos procedentes de la vanguardia de su campo de estudio.

CB2. Que los estudiantes sepan aplicar sus conocimientos a su trabajo o vocación de una forma profesional y posean las competencias que suelen demostrarse por medio de la elaboración y defensa de argumentos y la resolución de problemas dentro de su área de estudio.

CB3. Que los estudiantes tengan la capacidad de reunir e interpretar datos relevantes (normalmente dentro de su área de estudio) para emitir juicios que incluyan una reflexión sobre temas relevantes de índole social, científica o ética.

CB4. Que los estudiantes puedan transmitir información, ideas, problemas y soluciones a un público tanto especializado como no especializado.

CB5. Que los estudiantes hayan desarrollado aquellas habilidades de aprendizaje necesarias para emprender estudios posteriores con un alto grado de autonomía.

Competencias Generales

CG1. Saber identificar la organización y función de los sistemas biológicos en los niveles celular y molecular, siendo capaces de discernir los diferentes mecanismos moleculares y las transformaciones químicas responsables de un proceso biológico.

CG2. Saber aplicar los conocimientos de Bioquímica y Biología Molecular a la práctica profesional y poseer las competencias y habilidades intelectuales necesarias para dicha práctica, incluyendo capacidad de: gestión de la información, análisis y síntesis, resolución de problemas, organización y planificación y generación de nuevas ideas.

CG3. Ser capaces de reunir e interpretar datos, información y resultados relevantes, obtener conclusiones y emitir informes razonados en temas relevantes de índole social, científica o ética en conexión con los avances en Bioquímica y Biología Molecular.

CG4. Saber transmitir información, ideas, problemas y soluciones en el ámbito de la Bioquímica y Biología Molecular a un público tanto especializado como no especializado.

CG5. Desarrollar aquellas estrategias y habilidades de aprendizaje necesarias para emprender estudios posteriores en el área de Bioquímica y Biología Molecular y otras áreas afines con un alto grado de autonomía.

CG6. Adquirir habilidades en el manejo de programas informáticos incluyendo el acceso a bases de datos bibliográficas, estructurales o de cualquier otro tipo útiles en Bioquímica y Biología Molecular.

Competencias Transversales

CT1. Tener compromiso ético y preocupación por la deontología profesional.

² Deben ajustarse a lo recogido en la memoria verificada del título.

- CT2.** Saber utilizar las herramientas informáticas básicas para la comunicación, la búsqueda de información, y el tratamiento de datos en su actividad profesional.
- CT3.** Tener capacidad de análisis, síntesis y razonamiento crítico en la aplicación del método científico.
- CT4.** Tener capacidad de aprendizaje y trabajo autónomo (capacidad de análisis, de síntesis, de visiones globales y de aplicación de los conocimientos a la práctica/capacidad de tomar decisiones y adaptación a nuevas situaciones).
- CT5.** Tener capacidad comunicativa (capacidad de comprender y de expresarse oralmente y por escrito, dominando el lenguaje especializado).
- CT6.** Tener capacidad creativa y emprendedora (capacidad de formular, diseñar y gestionar proyectos).
- CT7.** Tener capacidad de trabajo en equipo (capacidad de colaborar con los demás y de contribuir a un proyecto común/capacidad de colaborar en equipos interdisciplinarios y en equipos multiculturales).
- CT8.** Tener capacidad de desenvolverse con seguridad en un laboratorio.
- CT9.** Ser capaz de utilizar el inglés como vehículo de comunicación científica.

Competencias Específicas

- CE13.** Conocer las técnicas básicas de cultivos celulares, así como las de procesamiento de células y tejidos para obtener preparaciones de orgánulos subcelulares.
- CE15.** Poseer las habilidades “cuantitativas” para la experimentación en Biociencias, incluyendo la capacidad de preparar reactivos para experimentos de manera exacta y reproducible.
- CE16.** Capacidad para trabajar de forma adecuada utilizando el material biológico y químico, incluyendo seguridad, manipulación, eliminación de residuos biológicos y químicos, y registro anotado de actividades.
- CE17.** Saber aplicar protocolos experimentales de laboratorio dentro del área de las Biociencias.
- CE18.** Poseer las habilidades matemáticas, estadísticas e informáticas para obtener, analizar e interpretar datos, y para entender modelos sencillos de los sistemas y procesos biológicos a nivel celular y molecular.
- CE20.** Adquirir la capacidad para transmitir información dentro del área de las biociencias, incluyendo el dominio de la terminología específica
- CE28.** Conocer los principios y aplicaciones de los principales métodos experimentales e instrumentación utilizados en Bioquímica y Biología Molecular, con énfasis en las técnicas de aislamiento y caracterización de macromoléculas biológicas.
- CE31.** Adquirir la formación básica necesaria para el desarrollo de proyectos de investigación en el área de la Bioquímica y Biología Molecular, incluyendo saber plantear las preguntas apropiadas, poder formular hipótesis y diseñar los experimentos adecuados para contrastarlas, así como poder interpretar, con rigor científico, los resultados experimentales.

Contenidos⁶

Breve descripción del contenido

Cultivo de células animales. Transferencia de DNA a células animales. Purificación de DNA y RNA. Marcaje de sondas e hibridación molecular. Síntesis de cDNA y rtPCR. qPCR en diagnóstico molecular y en estudios de expresión génica. Inmunoprecipitación de proteínas. Técnicas electrofisiológicas de pinzamiento zonal de membranas. Microscopía y citometría de flujo.

Temario de la asignatura
<p>Programa teórico (1,48 ECTS/ 37 horas presenciales)</p> <p>Las clases de teoría se realizarán en la franja horaria establecida por la Facultad de Veterinaria publicada en el siguiente enlace: http://www.unex.es/conoce-la-unex/centros/veterinaria/informacion-academica/horarios</p>
<p>Tema 1. Introducción al Cultivo de Células animales Historia. Tipos de cultivos celulares. Metabolismo y Biología celular de las células en cultivo. Ventajas y limitaciones del cultivo de células de mamíferos.</p>
<p>Tema 2. Diseño y Normas de trabajo en laboratorio de cultivos Equipamiento necesario. Técnicas de esterilización. Normas de Seguridad. Medios de cultivo. Tipos de placas de cultivo. Incubadores de CO₂. Crio-conservación. Contaminación de cultivos.</p>
<p>Tema 3. Cultivos Primarios Tipos de cultivos primarios. Factores de crecimiento. Pasaje, conservación, clonaje e inmortalización de células a partir de tejidos.</p>
<p>Tema 4. Cultivo de líneas celulares Tipos de líneas celulares. Cultivo de células tumorales. Introducción al cultivo de células humanas.</p>
<p>Tema 5. Aplicaciones del Cultivo de Células y Tejidos en Bioquímica y Biomedicina. Ejemplos.</p>
<p>Tema 6. Aislamiento del DNA y del RNA Hidrólisis química de ácidos nucleicos. Agentes desnaturizantes de proteínas. Agentes caotrópicos. Métodos cromatográficos de purificación: intercambio iónico y afinidad. Precipitación de ácidos nucleicos.</p>
<p>Tema 7. Marcaje de sondas e hibridación molecular Desplazamiento de muesca, extensión de cebadores aleatorios e incorporación de marcaje por PCR. Electroforesis, transferencia e hibridación del DNA (Southern) y del RNA (Northern). Factores que determinan la hibridación molecular: fuerza de la hibridación.</p>
<p>Tema 8. Síntesis de cDNA y rtPCR DNA polimerasas dependientes de RNA. Cebadores para la síntesis del cDNA. PCR sobre cDNA: aplicaciones.</p>
<p>Tema 9. Aplicaciones de la qPCR Detección de patógenos por qPCR. Identificación de polimorfismo génico por qPCR. Análisis de la expresión génica por qPCR. Trazabilidad de los alimentos por qPCR.</p>
<p>Tema 10. Transferencia de genes a células animales Conceptos básicos. Integración del DNA en el genoma de células de mamíferos. Métodos de transfección: químicos, físicos y biológicos. Marcadores de selección. Marcadores de expresión. Aplicaciones.</p>
<p>Tema 11: La inmunoprecipitación y sus aplicaciones Principios básicos. Método directo e indirecto Tipos de inmunoprecipitación: Inmunoprecipitación de proteínas individuales (IP). Inmunoprecipitación de complejos protéicos (Co-IP). Inmunoprecipitación de cromatina (ChIP). Inmunoprecipitación de RNA (RIP). Aplicaciones.</p>
<p>Tema 12: Técnicas electrofisiológicas de pinzamiento zonal de membranas o "Patch clamp"</p>

El patch clamp y su contexto. Principios teóricos básicos: propiedades eléctricas de las membranas; las membranas celulares como circuitos equivalentes; métodos de registro. Instrumentación para el registro de canales individuales: plataformas de soporte; óptica y mecánica; electrodos y micropipetas; electrónica. Obtención de sellos de membranas: tipos y configuraciones. Protocolos y análisis de datos. Aplicaciones.

Tema 13: Microscopía de Fluorescencia, Confocal, Multifotón y Super-Resolución

Principios básicos de la Fluorescencia, cromóforos, fluorocromos y Aplicaciones. Proteínas fluorescentes. Cómo funciona un Microscopio de fluorescencia: Excitación, filtros, emisión y captación de las señales. Objetivos: características y usos. Grabación de imágenes: Cámaras, tipos y uso. Microscopía de barrido láser confocal, principios y Aplicaciones. El uso de la fluorescencia en el microscopio confocal, microscopía espectral. Microscopía Multifotón, principios y Aplicaciones. Tipos de láseres pulsantes, reconstrucciones 3D. Análisis de cultivos organotípicos y en animales. La nueva frontera: Super-Resolución: tipos, principios, aplicaciones.

Tema 14: La Citometría de Flujo (CDF) como herramienta fundamental en el análisis celular Historia de la CDF

Aplicaciones de la CDF (introducción). Principios físicos de la CDF: la luz, la fluorescencia y la toma de datos, los láseres como fuentes lumínicas, filtros ópticos y detectores. Captación de las señales y conversión analógico-digital. Visualización de los datos, análisis y presentación de resultados. Tipos de citómetros de flujo: analizadores, sorters. Preparación de muestras, análisis multiplexados y solapamiento de fluorescencias. Aplicaciones de la CDF: metabolismo, ciclo celular, viabilidad, senescencia, expresión de proteínas, fenotipajes, análisis de células madre, microbiología, etc.

Programa práctico de la asignatura

Prácticas de laboratorio (0,8 ECTS/ 20 horas presenciales)

Práctica 1. Introducción a los cultivos celulares (6 horas).

Práctica 2: Inmunoprecipitación de proteínas mediante bolas magnéticas (9 horas).

Práctica 3: Estudio de la función celular mediante citometría de flujo. Funcionamiento básico de un citómetro-separador celular (5 horas).

Las prácticas de laboratorio se realizarán en la franja horaria establecida por la Facultad de Veterinaria y que se publicará en el siguiente enlace: http://www.unex.es/conoce-la_unex/centros/veterinaria/informacion-academica/horarios

Seminarios (0,12 ECTS/3 horas presenciales)

Exposición de un trabajo de investigación poniendo especial atención a la metodología aplicada en el mismo.

Actividades formativas ³								
Horas de trabajo del estudiante por tema		Horas Gran grupo	Actividades prácticas				Actividad de seguimiento	No presencial
Tema	Total	GG	PCH	LAB	ORD	SEM	TP	EP
1	6	2						4
2	6	2						4
3	6	2						4
4	6	2						4
5	6	2						4
6	6	2						4
7	9	3						6
8	6	2						4
9	9	3						6
10	9	3						6
11	6	2						4
12	12	5						7
13	6	2						4
14	7	3						4
Practica 1	7			6				1
Practica 2	10			9				1
Practica 3	6			5				1
Seminarios	10					3		7
Evaluación⁴	17	2						15
TOTAL	150	37		20		3		90

GG: Grupo Grande (100 estudiantes).

PCH: prácticas clínicas hospitalarias (7 estudiantes)

LAB: prácticas laboratorio o campo (15 estudiantes)

ORD: prácticas sala ordenador o laboratorio de idiomas (30 estudiantes)

SEM: clases problemas o seminarios o casos prácticos (40 estudiantes).

TP: Tutorías Programadas (seguimiento docente, tipo tutorías ECTS).

EP: Estudio personal, trabajos individuales o en grupo, y lectura de bibliografía.

Metodologías docentes⁶

Las actividades programadas para la consecución de las competencias específicas propuestas son:

Programa teórico

Metodología Expositiva-participativa. Clases magistrales en pizarra y/o con apoyo de medios audiovisuales en grupo grande. El material audiovisual utilizado en las sesiones estará disponible en el aula virtual de la asignatura. Competencias específicas a desarrollar: CE13, CE17, CE18, CE20, CE28, CE31.

³ Esta tabla debe coincidir exactamente con lo establecido en la ficha 12c de la asignatura.

⁴ Indicar el número total de horas de evaluación de esta asignatura.

Programa Práctico de Laboratorio

Metodología Expositiva-participativa. Las prácticas de laboratorio se realizarán en grupos reducidos que permitan el acceso de todos los alumnos al material de trabajo. El profesor presentará los objetivos, orientará el trabajo, planteará cuestiones relacionadas con los apartados teóricos ya explicados y realizará el seguimiento de la experimentación. El alumno deberá realizar sus experimentos siguiendo los guiones de prácticas diseñados, consultará dudas tanto teóricas como metodológicas y presentará al profesor los resultados obtenidos cuando éste se lo solicite. Competencias a desarrollar: CE13, CE15, CE16, CE17, CE18, CE20, CE28, CE31.

Programa Práctico de Seminarios

Metodología Expositiva-participativa. Seminarios elaborados por grupos de alumnos sobre un artículo de investigación, en el que se desarrollen las técnicas estudiadas en la asignatura, y destinados al gran grupo. Competencias a desarrollar: CE13, CE17, CE18, CE20, CE28, CE31

Actividad no presencial de aprendizaje

El alumno estudiará la materia, elaborará las memorias de prácticas y los seminarios.

Resultados de aprendizaje⁶

Como resultado de cursar la asignatura, el alumno deberá:

Saber utilizar el cultivo celular para el estudio de los procesos bioquímicos. Tener un buen conocimiento teórico de los procesos de transferencia de DNA a células animales en cultivo. Tener un buen conocimiento teórico y práctico de la inmunoprecipitación de proteínas. Saber diseñar y ejecutar los protocolos necesarios para estudiar la función celular mediante citometría de flujo. Saber diseñar y ejecutar los protocolos necesarios para la purificación a homogeneidad de los distintos tipos de ácidos nucleicos, especialmente el DNA genómico y el RNA. Saber llevar a cabo los métodos de identificación de secuencias basados en separación electroforética, transferencia y detección mediante sondas moleculares o anticuerpos específicos. Saber realizar la síntesis de cDNA. Saber diseñar técnicas de PCR, incluyendo la qPCR, aplicándolo al diagnóstico molecular y a los estudios de expresión génica.

Sistemas de evaluación⁶

El alumno será evaluado teniendo en cuenta las competencias y habilidades adquiridas.

Teniendo en cuenta la Normativa de Evaluación de los Resultados de Aprendizaje y de las Competencias Adquiridas por el Alumnado en las Titulaciones Oficiales de la Universidad de Extremadura (DOE del 3 de noviembre de 2020), el alumno puede ser evaluado de una forma continua o de una forma global. La elección de la modalidad de evaluación global corresponde a los estudiantes, que podrán llevarla a cabo a través de un espacio específico creado para ello en el Campus Virtual donde el profesorado gestionará estas solicitudes. Los

plazos para elegir la modalidad global serán los siguientes: para las asignaturas con docencia en el primer semestre, durante el primer cuarto del periodo de impartición de las mismas y para las asignaturas con docencia en el segundo semestre, durante el primer cuarto del periodo de impartición de las mismas o hasta el último día del periodo de ampliación de matrícula si este acaba después de ese periodo durante el primer cuarto del periodo de impartición de la asignatura. En caso de ausencia de solicitud expresa por parte del estudiante, la modalidad asignada será la de evaluación continua. La elección de la modalidad de evaluación global supone la renuncia al derecho de seguir evaluándose de las actividades de la modalidad de evaluación continua que resten y a la calificación obtenida hasta ese momento en cualquiera de las que ya se hayan celebrado.

Sistema de Evaluación Continua

Convocatoria de evaluación ordinaria

Instrumentos de evaluación y Porcentaje de cada apartado sobre la calificación final

A. Los conocimientos teóricos adquiridos por el alumno se evaluarán mediante la realización de un examen escrito compuesto de preguntas cortas y/o de tipo test. La calificación obtenida en esta parte supondrá el 70 % de la calificación final de la asignatura. No obstante, para superar la asignatura será requisito imprescindible que la calificación de esta prueba no sea inferior al 40% del máximo asignado a la misma.

B. Las prácticas de laboratorio se evaluarán mediante la valoración de la participación y el trabajo experimental realizado durante las mismas, así como la calificación de informes acerca de los resultados obtenidos en el laboratorio. La asistencia a las clases prácticas es obligatoria. La calificación obtenida en esta parte supondrá el 20% de la calificación final de la asignatura.

C. En la evaluación de los seminarios se tendrá en cuenta el conocimiento del alumno en relación con el tema propuesto, la capacidad de comunicación, claridad de la presentación y participación en grupo (autoevaluación). La calificación obtenida en esta parte supondrá el 10% de la calificación final de la asignatura.

Criterios de Evaluación

La calificación final obtenida en la evaluación será la suma de las valoraciones numéricas de los tres apartados descritos anteriormente.

Competencias a evaluar

Todas las recogidas en el plan docente de la asignatura

Convocatoria de evaluación extraordinaria

Aquellos estudiantes que no hayan superado la asignatura por curso (evaluación ordinaria) podrán ser evaluados mediante un examen extraordinario que incluirá la evaluación del programa teórico. La calificación obtenida supondrá el 70 % de la calificación final de la

asignatura y para superar la asignatura será requisito imprescindible que la calificación de esta prueba no sea inferior al 40% del máximo asignado a la misma. El 30% restante corresponde a las actividades que deben haber sido evaluadas durante el curso (prácticas de laboratorio y seminarios).

Competencias a evaluar

Todas las recogidas en el plan docente de la asignatura

Sistema de Evaluación Global

Los alumnos que se hayan acogido al sistema de evaluación con una única prueba final de carácter global serán evaluados mediante una única prueba que constará de tres partes claramente diferenciadas, una parte correspondiente al programa teórico, otra al programa práctico y otra al programa de seminarios, que computarán con el 70%, 20% y 10% de la calificación final, respectivamente.

Competencias a evaluar

Todas las recogidas en el plan docente de la asignatura

Las convocatorias de evaluación ordinaria y extraordinaria de la asignatura se publicarán en el siguiente enlace <https://www.unex.es/conoce-la-ux/centros/veterinaria/informacion-academica/examenes>.

Bibliografía (básica y complementaria)

Bibliografía básica

Culture of animal cells. A manual of basic techniques and specialized applications. (Sixth Edition, 2010). R. Ian Freshney. Editorial. Wiley- Blackwell. ISBN 978-0-470-52812-9

Molecular cloning: a laboratory manual, 4th Edition. Green, M.R.; Sambrook, J. 2012. Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Quantitative Real-Time PCR: Methods and Protocol. Biononi, R; Raso, A (eds). 2012. Springer. Real-time PCR. Dorak, M.T. (ed.). 2006. Taylor & Francis Group.

Gene transfer to animal cells. Twyman R. 2004. Routledge, Taylor and Francis.

RNA Methodologies. Four edition. Farrel RE. Elsevier 2010
(<http://www.sciencedirect.com/science/book/9780123747273>)

Confocal Microscopy for Biologists, Alan R. Hibbs, Kluwer Academic, New York, 2004.

Confocal and Two-Photon Microscopy: Foundations, Applications and Advances, Alberto Diaspro, Ed., 2001.

Fluorescence Microscopy, Kenneth R. Spring, chapter in: Encyclopedia of Optical

Engineering (DOI: 10.1081/E-EOE 120009628), Marcel Dekker, Inc. New York, 2003.

Introduction to Flow Cytometry - Cambridge Books Online – J. Watson, 2004.
(ebooks.cambridge.org/ebook.jsf?bid=CBO9780511565090).

Flow Cytometry Protocols, Hawley, Teresa S., Hawley, Robert G. (Eds.), Methods in Molecular Biology, Springer, 2011.

Bibliografía complementaria

Conceptual and technical aspects of transfection and gene delivery. Lars Kaestner, Anke Scholz, Peter Lipp. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 25 (2015) 1171–1176.

Strategies for multigene expression in eukaryotic cells. Maysam Mansouri, Philipp Berger. Plasmid 75 (2014) 12–17.

Physical Methods for Intracellular Delivery: Practical Aspects from Laboratory Use to Industrial-Scale Processing. J. Mark Meacha, Kiranmai Durvasula, F. Levent Degertekin, and Andrei G. Fedorov. J Lab Autom. 2014 February ; 19(1): 1–18.
doi:10.1177/2211068213494388.

Role of ChIP-seq in the discovery of transcription factor binding sites, differential gene regulation mechanism, epigenetic marks and beyond. Rasika Mundade, Hatice Gulcin Ozer, Han Wei, Lakshmi Prabhu & Tao Lu. Cell Cycle, 13:18, 2847-2852.
<http://dx.doi.org/10.4161/15384101.2014.949201>.

Identifying novel protein interactions: Proteomic methods, optimisation approaches and data analysis pipelines. Daniel Gonçalves Carneiro, Thomas Clarke, Clare C. Davies , Dalan Bailey. Methods 95 (2016) 46–54.

Mapping Transcription Regulatory Networks with ChIP-seq and RNA-seq. Joseph T.Wade. Adv Exp Med Biol. 2015;883:119-34. doi: 10.1007/978-3-319-23603-2_7.

Chromatin Immunoprecipitation (ChIP). Carey MF, Peterson CL, Samale T. Cold Spring Harb protocol. doi10.1101/pdb.prot5279.

Practical Flow Cytometry, 4th Edition - Howard M. Shapiro, Wiley, 2004.

Confocal Microscopy: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology) 2nd Edition, Stephen W. Paddock (Editor), 2011.

Otros recursos y materiales docentes complementarios

AVUEx: Aula Virtual de la Universidad de Extremadura <http://campusvirtual.unex.es/portal/>

Modern Flow Cytometry, expertcytometry.com.