

PLAN DOCENTE DE LA ASIGNATURA

Curso académico: 2024/2025

| 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 | | |
| Profesorado | | | |
| Nombre | Despacho | Correo-e | Página web |
| Teoría y Prácticas: | | | |
| González Fernández, Lauro | Despacho 1D10 (Institutos Investigación) | lgonfer@unex.es | http://www.unex.es/conoce-la-unex/estructura-academica/centros/veterinaria/centro/profesores |
| Gómez Suaga, Patricia | Anexo Investigación (Facultad de Enfermería y T.O.) | pgomezsuga@unex.es | |
| Área de conocimiento | Bioquímica y Biología Molecular | | |
| Departamento | Bioquímica y Biología Molecular y Genética | | |
| Profesor coordinador | Lauro González Fernández | | |
| Competencias | | | |
| 1. Competencias Básicas | | | |
| <p>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.</p> <p>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.</p> | | | |

- 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.

2. 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.

3. Competencias Transversales

- CT1.** Tener compromiso ético y preocupación por la deontología profesional.
- 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 interdisciplinares 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.

4. 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.

Contenidos

Breve descripción del contenido

Cultivo de células animales. Transferencia de ADN a células animales. Purificación de ADN y ARN. Marcaje de sondas e hibridación molecular. Síntesis de cADN y rtPCR. qPCR en diagnóstico molecular y en estudios de expresión génica. Inmunoprecipitación de proteínas. Microscopía y citometría de flujo. Técnicas de fecundación *in vitro*. Técnicas de aislamiento de vesículas extracelulares.

Temario de la asignatura

Programa teórico (1,6 ECTS/ 40 horas presenciales)

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>

Tema 1. Introducción al cultivo de células animales.

Normas de trabajo, equipamiento y material del laboratorio de cultivo. Tipos de cultivos celulares. Pase y crio-conservación. Ventajas y limitaciones del cultivo de células de mamíferos.

Tema 2. Cultivos primarios y líneas celulares.

Tipos de cultivos primarios. Cultivos secundarios: transformación. Líneas celulares continuas.

Tema 3. Transferencia de ADN a células animales.

Conceptos básicos. Tipos de transfección. Métodos de transfección: químicos, físicos y biológicos. Marcadores de selección y expresión.

Tema 4. Reprogramación celular.

Introducción a la generación de células madre pluripotentes inducidas diferenciadas y a la transdiferenciación a partir de células adultas. Caracterización. Ejemplos.

Tema 5. Aplicaciones del cultivo celular en bioquímica y biomedicina.

Ejemplos.

Tema 6. La inmunoprecipitación y sus aplicaciones.

Principios básicos. Método directo e indirecto. Tipos de inmunoprecipitación: inmunoprecipitación de proteínas individuales (IP), inmunoprecipitación de complejos proteicos (Co-IP). Inmunoprecipitación de cromatina (ChIP). Inmunoprecipitación de ARN (RIP). Pull-down. Aplicaciones.

Tema 7. Microscopía de fluorescencia, confocal, multifotón y super-resolución.

Principios básicos de la fluorescencia. Fluoróforos y aplicaciones: moléculas orgánicas, puntos cuánticos y proteínas fluorescentes. Funcionamiento de un microscopio de fluorescencia: fuentes de 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. Microscopía espectral. Microscopía multifotón, principios y aplicaciones. La nueva frontera: super-resolución: tipos, principios y aplicaciones.

Tema 8. Citometría de flujo.

Aplicaciones de la citometría de flujo (introducción). Principios físicos de la citometría de flujo: la luz, la fluorescencia, 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. Aplicaciones de la citometría de flujo: metabolismo, ciclo celular, viabilidad, expresión de proteínas, etc. Tipos de citómetros de flujo: espectral, citómetro de imagen, sorter, citometría fotoacústica. Procesamiento de datos y mantenimiento de un citómetro.

Tema 9. Técnicas de fecundación *in vitro*.

Conceptos básicos. Fecundación *in vitro* convencional. Inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). Clonación. Crio-preservación de gametos y embriones. Vitrificación. Liofilización. Aplicaciones.

Tema 10. Técnicas de obtención, aislamiento y caracterización de vesículas extracelulares.

Conceptos básicos. Métodos de obtención. Técnicas de aislamiento: Ultracentrifugación, cromatografía de exclusión, captura inmuno-magnética.

Caracterización: microscopía electrónica criogénica (Cryo-EM), análisis de rastreo de nanopartículas (Nanoparticle Tracking Analysis, NTA), fraccionamiento por flujo de campo (FFF), exoELISA. Aplicaciones.

Tema 11. Aislamiento del ADN y del ARN.

Etapas del proceso. Métodos de purificación. Aislamiento de ADN plasmídico.

Tema 12. Marcaje de sondas e hibridación molecular

Técnicas basadas en la hibridación de los ácidos nucleicos en soporte sólido: Southern y Northern blotting. Hibridación fluorescente *in situ* (FISH). Sondas: Tipos. Marcaje. Síntesis.

Tema 13. Síntesis de cDNA y rtPCR

ADN polimerasas dependientes de ARN. Cebadores para la síntesis del cADN. rtPCR en un paso y rtPCR en dos pasos.

Tema 14. PCR cuantitativa (qPCR) y PCR digital.

Fundamentos de la qPCR. Métodos de análisis. Fundamentos de la PCR digital. Aplicaciones de la RT-qPCR: diagnóstico molecular y en estudios de expresión génica.

Actividades formativas

| Horas de trabajo del alumno/a por tema | | Horas Gran grupo | Actividades prácticas | | | | Actividad de seguimiento | No presencial |
|--|------------|------------------|-----------------------|-----------|---|---|--------------------------|---------------|
| Tema | Total | GG | CH | L | O | S | TP | EP |
| 1 | 8 | 2 | | | | | | 5 |
| 2 | 8 | 2 | | | | | | 5 |
| 3 | 8 | 2 | | | | | | 5 |
| 4 | 8 | 2 | | | | | | 5 |
| 5 | 9 | 1 | | | | | | 6 |
| 6 | 12 | 5 | | | | | | 8 |
| 7 | 10 | 4 | | | | | | 6 |
| 8 | 9 | 3 | | | | | | 6 |
| 9 | 8 | 4 | | | | | | 6 |
| 10 | 10 | 3 | | | | | | 6 |
| 11 | 8 | 3 | | | | | | 5 |
| 12 | 9 | 3 | | | | | | 6 |
| 13 | 8 | 2 | | | | | | 5 |
| 14 | 10 | 2 | | | | | | 6 |
| Práctica 1 | 7 | | | 7 | | | | 3 |
| Práctica 2 | 9 | | | 10 | | | | 4 |
| Práctica 3 | 7 | | | 3 | | | | 3 |
| Evaluación | 2 | 2 | | | | | | |
| TOTAL | 150 | 40 | | 20 | | | | 90 |

GG: Grupo Grande (85 estudiantes).

CH: Actividades de prácticas clínicas hospitalarias (7 estudiantes)

L: Actividades de laboratorio o prácticas de campo (15 estudiantes)

O: Actividades en sala de ordenadores o laboratorio de idiomas (20 estudiantes)

S: Actividades de seminario o de problemas en clase (40 estudiantes).

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

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

Metodologías docentes

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. Actividades participativas en el aula, en las cuales los alumnos serán divididos en grupos para trabajar un contenido específico. Uso de herramientas de gamificación para aprendizaje activo, tipo Kahoot, Woodlap, Quizz, etc. Competencias específicas a desarrollar: CE13, CE17, CE18, CE20, CE28, CE31.

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.

Actividad no presencial de aprendizaje

El alumno estudiará la materia, realizará análisis de documentos y elaborará las memorias de prácticas.

Resultados de aprendizaje

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 y práctico de los procesos de transferencia de ADN 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 de los distintos tipos de ácidos nucleicos, especialmente el ADN genómico y el ARN. 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 cADN. Saber

diseñar técnicas de PCR, incluyendo la qPCR, aplicándolo al diagnóstico molecular y a los estudios de expresión génica. Tener un buen conocimiento teórico de las técnicas de fecundación *in vitro* y de las técnicas de aislamiento y caracterización de vesículas extracelulares.

Sistemas de evaluación

El alumno será evaluado teniendo en cuenta las competencias y habilidades adquiridas. Para superar la asignatura será necesario obtener una calificación final mínima de 5 puntos.

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. El plazo para elegir la modalidad global será durante el primer cuarto del periodo de impartición de la asignatura o hasta el último día del periodo de ampliación de matrícula si este acaba después de ese periodo. 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 y/o de tipo test. La calificación obtenida en esta parte supondrá el **75 %** 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 elaboración de cuestionarios y/o informes acerca de los resultados obtenidos en el laboratorio. La asistencia a las clases prácticas y la realización de los cuestionarios y/o informes es obligatoria. La calificación obtenida en esta parte supondrá el **15 %** 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.

C. Realización de trabajos y participación en actividades de aprendizaje activo. Actividades de aprendizaje activo: el alumno deberá buscar información, elaborar, exponer y defender en el aula el trabajo realizado. Además, se realizarán cuestionarios en clase tipo Kahoot, Woodlap o similares como refuerzo positivo para su formación. 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 dos 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 80 % 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 20 % restante corresponde a las actividades que deben haber sido evaluadas durante el curso (prácticas de laboratorio).

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 dos partes claramente diferenciadas, una parte correspondiente al programa teórico y otra al programa práctico, que computarán con el 80% y 20% 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-unex/centros/veterinaria/informacion-academica/examenes>.

Bibliografía (básica y complementaria)

Bibliografía básica

- Culture of animal cells. A manual of basic techniques and specialized applications. (8th Edition, 2021). R. Ian Freshney. Editorial. Wiley- Blackwell. ISBN 978-1-119-51304-9.
- 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. Bionani, 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. 4th 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.

- In Vitro Fertilization. A Textbook of Current and Emerging Methods and Devices. 2019. ISBN: 978-3-319-43011-9.
- Cryopreservation of Mammalian Gametes and Embryos. Methods and Protocols. 2017. ISBN: 978-1-4939-6828-2.
- Intracytoplasmic Sperm Injection. Indications, Techniques and Applications. 2018. ISBN: 978-3-319-70497-5.

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.