

**Tècniques instrumentals bàsiques****2015/2016**

Codi: 100921

Crèdits: 3

| Titulació             | Tipus | Curs | Semestre |
|-----------------------|-------|------|----------|
| 2500253 Biotecnologia | OB    | 1    | 1        |

**Professor de contacte**

Nom: Pedro Suau León

Correu electrònic: Pere.Suau@uab.cat

**Utilització de llengües**

Llengua vehicular majoritària: català (cat)

**Prerequisites**

No hay prerequisites para esta asignatura. Se recomienda repasar los conceptos básicos de química i biología adquiridos durante el bachillerato.

**Objectius**

Esta asignatura se imparte en el Grado de Biotecnología dentro de la materia de Métodos Experimentales. Es una asignatura de primer año (primer semestre), obligatoria y de 3 ECTS. Se imparte a un grupo de unos 80 alumnos, con una formación de base posiblemente diversa.

Esta asignatura, con contenido exclusivamente teórico, forma parte de una materia donde el resto de las asignaturas son eminentemente prácticas. La materia, Métodos Experimentales, pretende potenciar el carácter eminentemente experimental de la Biotecnología, acentuando su carácter interdisciplinar, para ello es necesario el conocimiento de las bases teóricas de las técnicas, así como su aplicación. Es en este contexto, donde la asignatura de Técnicas Básicas, define sus objetivos formativos.

Otro aspecto importante que determina los objetivos, y sobre todo los contenidos de esta asignatura, es la existencia de la asignatura de Técnicas Avanzadas, que se imparte en tercer año. Ambas asignaturas son complementarias y entre las dos se pretende cubrir el conjunto de técnicas de base química, biológica y física que precisa conocer y saber utilizar un bioquímico.

El objetivo general es que el alumno conozca las principales técnicas instrumentales que se desarrollan en el laboratorio y que pueda necesitar a la largo de sus estudios y actividad profesional. Este objetivo se puede concretar en:

- Adquirir y comprender el fundamento teórico de las principales técnicas instrumentales básicas.
- Aplicación de estas técnicas en el ámbito de la Biotecnología.
- Potenciar la capacidad de auto-aprendizaje del alumno. El alumno debe aprender a obtener información y adquirir el hábito de usar esta información críticamente.
- Aumentar el interés del alumno por los aspectos técnicos de la ciencia.

**Competències**

- Adquirir nous coneixements i tècniques de forma autònoma.

- Aplicar les principals tècniques associades a l'ús de sistemes biològics: DNA recombinant i clonació, cultius cel·lulars, manipulació de virus, bacteris i cèl·lules animals i vegetals, tècniques immunològiques, tècniques de microscòpia, proteïnes recombinants i mètodes de separació i caracterització de biomolècules.
- Dissenyar i executar un protocol complet d'obtenció i purificació d'un producte biotecnològic.
- Interpretar resultats experimentals i identificar elements consistents i inconsistents.
- Pensar d'una forma integrada i abordar els problemes des de diferents perspectives.
- Treballar de forma individual i en equip.

## Resultats d'aprenentatge

1. Adquirir nous coneixements i tècniques de forma autònoma.
2. Descriure el fonament teòric i aplicar les tècniques adequades per a la caracterització estructural i funcional de proteïnes i àcids nucleics.
3. Descriure els fonaments teòrics de les tècniques bàsiques i avançades d'obtenció i caracterització de biomolècules.
4. Interpretar resultats experimentals i identificar elements consistents i inconsistents.
5. Pensar d'una forma integrada i abordar els problemes des de diferents perspectives.
6. Proposar estratègies per a la purificació de biomolècules de barreges complexes.
7. Treballar de forma individual i en equip.

## Continguts

### Programa

#### Tema 1: Tècniques cromatogràfiques

Introducció. Cromatografia de repartiment en paper i en capa fina. Cromatografia en columna: filtració en gel, intercanvi iònic, hidrofòbica i afinitat. Mètodes d'elució: continu (per gradient), discontinu (per escalas). Cromatografia líquida d'alta resolució (HPLC). Fundaments i característiques. Instrumentació. Cromatografia de gasos. Exemples de purificació de macromolècules per tècniques cromatogràfiques.

#### Tema 2: Espectroscòpia d'absorció electrònica

Propietats de la radiació electromagnètica. Interacció de la radiació amb la matèria. Absorció/dispersió. Principis bàsics. Espectroscòpia d'absorció electrònica. Aspectes quantitatius de les mesures d'absorció (Llei de Lambert-Beer). Disseny dels instruments per a la mesura de l'absorció: Espectrofotòmetres. Anàlisi espectroscòpic de biopolímers.

#### Tema 3: Tècniques electroforètiques.

Moviment dels ions en un camp elèctric. Electroforesis de proteïnes: Electroforesis de SDS-PAGE, electroenfoque, bidimensional, nativa. Electroforesis d'àcids nucleics: nativa, desnaturant, camp pulsant i gradient tèrmic. Tincions i mètodes de detecció. Anàlisi de transferència (Western, Southern, Northern, Southwestern).

#### Tema 4: Tècniques immunològiques.

Aspectes pràctics de l'obtenció d'anticossos. Preparació d'anticossos monoclonals. Reacció antígen-anticòs. Immunoprecipitació. Immunoelectroforesis. RIA. Elisa.

#### Tema 5: Reacció en cadena de la polimerasa: PCR.

Fundaments de la tècnica. Especificitat i rendiment. Disseny dels cebadors (programes informàtics). Efecte "plateau". Optimització de la reacció. Secuenciació. Mutagènesis. PCR in situ, RT-PCR, Ràpida ampliació dels extrems de cDNA (RACE), PCR en temps real, PCR mediat per lligació (LM-PCR). Aplicacions clíniques: diagnòstic de infeccions víriques, detecció de RFLP i malalties hereditàries. Aplicacions legals.

## Tema 6: Isòtops radioactius.

Cinètica de desintegració radioactiva. Isòtops utilitzats en Bioquímica. Procediments i mètodes de marcaje. Marcaje in vivo. Marcaje de àcids nucleics. Marcaje de proteïnes. Detecció de la radiació. Detectores de ionització. Contadors de centelleo. Autorradiografia. Mètodes alternatius a la autorradiografia (phosphorimaging). Sistemes quimioluminescents com a alternativa a los isòtops radioactius. Protecció en el uso de isòtops radioactius.

## Metodologia

Clases magistrals. En alguns de los temas se resoldran problemes intercalados con los conceptos teòrics para facilitar su comprensió.

En funció del desenvolupament de la assignatura se proposaran tutorias para la discusió de aspectes diversos de la materia.

## Activitats formatives

| Títol                             | Hores | ECTS | Resultats d'aprenentatge |
|-----------------------------------|-------|------|--------------------------|
| <b>Tipus: Dirigides</b>           |       |      |                          |
| clases teòriques                  | 22    | 0,88 | 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7      |
| <b>Tipus: Supervisades</b>        |       |      |                          |
| Discusió y dudas sobre la materia | 6     | 0,24 | 2, 3, 4, 5, 6, 7         |
| <b>Tipus: Autònomes</b>           |       |      |                          |
| Estudio                           | 43    | 1,72 | 1, 5, 7                  |

## Avaluació

### Módulo de pruebas escritas

Evaluación final: Una vez finalizado el periodo docente, se realizara una prueba escrita sobre la totalidad de los contenidos impartidos en la asignatura.

Evaluación recuperación: Se realizará una evaluación de recuperación. Consistirá en una prueba escrita de las mismas características que la prueba final. Podrán presentarse a esta prueba los alumnos que no hayan superado la evaluación final o aquellos que quieran mejorar la nota. La opción de mejorar nota anula la nota anterior.

### Consideraciones generales:

Criterios de evaluación: se evalúan individualmente los conocimientos de la materia impartida adquiridos por los alumnos, así como sus capacidades de relacionar conceptos, de análisis, de síntesis y de razonamiento crítico.

La revisión se realizara en día y lugar concertado, tal como se especifica en la normativa de la Facultad.

Definición del NO EVALUABLE: El no evaluable corresponde a los alumnos que no se hayan presentado a ninguna de las dos pruebas previstas.

Casos Especiales: Los alumnos que por una causa documentalmente justificada no puedan asistir a alguna de las pruebas escritas deberán consultar con el coordinador de la asignatura la posibilidad de recuperar dicha prueba.

En todos los casos se aplicará la Normativa de evaluación de la Facultad de Biociencias.

## Activitats d'avaluació

| Títol                      | Pes | Hores | ECTS | Resultats d'aprenentatge |
|----------------------------|-----|-------|------|--------------------------|
| Módulo de pruebas escritas | 100 | 4     | 0,16 | 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7      |

## Bibliografia

- Olivé, J., Casas, J.M., Garcia, J., Guadayol, J.M.

Cromatografia i electroforesi. Edicions UPC. Barcelona. 1994

- Cooper, T.G.

Instrumentos y Técnicas de Bioquímica. Editorial Reverté. Barcelona. 1984

- Freifelder, D.

Técnicas de Bioquímica y Biología Molecular. Editorial Reverté. Barcelona. 1991

- García-Segura, J.M.

Técnicas Instrumentales de Análisis en Bioquímica. Editorial Síntesis. Madrid. 1996

- Plummer, D.T.

Introducció a la Bioquímica Pràctica. Publicacions UB. 1994

- Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A.

Principios de Análisis Instrumental. 5ª ed. McGraw-Hill. 2001

- Skoog, D.A., Leary, J.J.

Análisis Instrumental. McGraw-Hill. 1994

- Brock, T.D.

Membrane Filtration. Springer-Verlag. Berlin. 1983

- Givan, A.L.

Flow Cytometry: First Principles. 2a ed. Wiley-Liss. 2001

- Harlow, E., Lane, D.

Antibodies: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory. New York. 1988

- Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J.

PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications. Academic Press. 1990.

- Liddell, E., Weeks, I.

Antibody Technology. Oxford Bios Scientific Publishers. 1995

- Oliver, R.W.

HPLC of Macromolecules. Oxford University Press. Oxford. 1998

- Ormerod, M.G.

Flow Cytometry. A Practical Approach. Oxford IRL Press. 1994

- Slater, R.J.

Radioisotopes in Biology. IRL Press. Oxford. 1990

- Westermeier, R.

Electrophoresis in Practice. 3<sup>a</sup> ed. Wiley-VCH. 2001

- White B. A.

PCR Protocols. Current Methods and Applications. Humana Press. 1993

Direcciones de interés relacionadas con diferentes técnicas instrumentales:

Aula Virtual de la Autònoma Interactiva: <https://cv2008.uab.cat>

Biorom 2008 <http://www.um.es/bbmbi/AyudasDocentes/bIOromDISCO/indices/index.html>

Roolpi. Tutorial explicativo de la PCR <http://palou.uib.es/roolpi/docencia/docencia.html>

University of Akron <http://ull.chemistry.uakron.edu/analytical/index.html>.