

Laboratori integrat 4

2015/2016

Codi: 100925

Crèdits: 3

Titulació	Tipus	Curs	Semestre
2500253 Biotecnologia	OB	2	2

Professor de contacte

Nom: Sandra Villegas Hernández

Correu electrònic: Sandra.Villegas@uab.cat

Utilització de llengües

Llengua vehicular majoritària: català (cat)

Equip docent

Joan Carles Artés Ferragud

Francesc Gòdia Casablanca

Josep Antoni Pérez Pons

Jesús Aranda Rodríguez

Prerequisits

Cal estar cursant simultàniament o haver cursat les assignatures de teoria corresponents als continguts de les pràctiques de laboratori.

Cal haver superat el test de seguretat als laboratoris. El test es respon en el corresponent espai del Campus Virtual i la informació que cal consultar es troba a l'espai de comunicació del Grau en Biotecnologia.

Objectius

El Laboratori Integrat 4 és la quarta assignatura d'un conjunt de 6 que es distribueixen a llarg del 6 semestres corresponents als tres primers cursos del Grau en Biotecnologia.

Els objectius formatius d'aquestes assignatures es centren en l'adquisició de competències en el marc de la formació pràctica de l'alumne.

Els continguts s'organitzen en ordre creixent de complexitat i associats a les necessitats i a l'avenç dels continguts teòrics del Grau.

El Laboratori Integrat 4 té com objectius formatius l'adquisició de competències pràctiques en 4 mòduls:

- Biologia i Genètica Molecular, i Tècniques de DNA Recombinant
- Microbiologia Molecular
- Bioreactors
- Mètodes Numèrics i Aplicacions Informàtiques.

Aquests mòduls s'agrupen en dos blocs:

1- Manipulació d'organismes: S'estableixen les bases de Biologia i Genètica Molecular necessàries per a la comprensió de les Tècniques de DNA Recombinant, alhora que es treballen els mecanismes de transmissió de informació genètica entre microorganismes i la seva modificació al laboratori.

2- Fonaments per al disseny de bioreactors i desenvolupament de bioprocessos: Es pretén l'adquisició de coneixements bàsics en el disseny, funcionament i caracterització dels principals tipus de bioreactors, i el plantejament i resolució de les equacions matemàtiques que se'n deriven.

Competències

- Aplicar els recursos informàtics per a la comunicació, la recerca d'informació, el tractament de dades i el càlcul.
- Aplicar les normes generals de seguretat i funcionament d'un laboratori i les normatives específiques per a la manipulació de diferents sistemes biològics.
- 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.
- Buscar, obtenir i interpretar la informació de les principals bases de dades biològiques, bibliogràfiques i de patents i usar les eines bioinformàtiques bàsiques.
- Descriure les bases del disseny i del funcionament de bioreactors i calcular, interpretar i racionalitzar els paràmetres rellevants en fenòmens de transport i els balanços de matèria i energia en els processos bioindustrials.
- Interpretar resultats experimentals i identificar elements consistents i inconsistents.
- Liderar i dirigir equips de treball, i desenvolupar les capacitats d'organització i planificació.
- Pensar d'una forma integrada i abordar els problemes des de diferents perspectives.
- Prendre decisions.
- Treballar de forma individual i en equip.
- Utilitzar els fonaments de matemàtiques, física i química necessaris per a comprendre, desenvolupar i avaluar un procés biotecnològic.

Resultats d'aprenentatge

1. Aplicar correctament els diferents processos d'eliminació de residus.
2. Aplicar els principis d'esterilitat a processos de manipulació i recompte de microorganismes.
3. Aplicar els recursos informàtics per a la comunicació, la recerca d'informació, el tractament de dades i el càlcul.
4. Aplicar les normes generals de seguretat d'un laboratori de biotecnologia.
5. Aplicar les tècniques fonamentals per a l'anàlisi, purificació i caracterització de biomolècules.
6. Descriure el fonament teòric i aplicar les tècniques adequades per a la caracterització estructural i funcional de proteïnes i àcids nucleics.
7. Extreure de les bases de dades informació complementària i de suport per a l'anàlisi dels resultats i l'elaboració de les memòries resultants del treball experimental.
8. Interpretar resultats experimentals i identificar elements consistents i inconsistents.
9. Liderar i dirigir equips de treball, i desenvolupar les capacitats d'organització i planificació.
10. Obtenir dades experimentals rellevants per al càlcul dels fenòmens de transport i el càlcul de balanços de matèria i energia.
11. Pensar d'una forma integrada i abordar els problemes des de diferents perspectives.
12. Prendre decisions.
13. Treballar de forma individual i en equip.
14. Utilitzar les tècniques bàsiques de manipulació, separació, detecció i anàlisi de proteïnes i àcids nucleics.
15. Utilitzar les tècniques bàsiques d'un laboratori de Química per a l'estudi de biomolècules.
16. Utilitzar les tècniques de cultius de cèl·lules procariotes, eucariotes i de manipulació de sistemes biològics.

Continguts

L'assignatura s'estructura en 4 mòduls.

Biologia i Genètica Molecular, i Tècniques de DNA Recombinant

Les pràctiques d'aquest mòdul es realitzaran al llarg de 5 sessions (quatre de 3,5 hores + una de 3 hores).

Pràctica 1 (sessions 1-5). Conceptes bàsics del clonatge de DNA

L'objectiu de la pràctica és presentar de manera integrada, mitjançant un model experimental senzill, alguna de les etapes i metodologies bàsiques subjacents al clonatge de DNA: preparació de cèl.lules d'*E. coli* competents, transformació amb una barreja de plasmidis, selecció de transformants, cribratge de característiques fenotípiques per rèplica en plaques de medis específics, cultiu en medi líquid i obtenció de DNA plasmídic (pDNA), digestió del pDNA amb enzims de restricció i anàlisi per electroforesi en gel d'agarosa (que permet establir la correlació entre fenotip i genotip). Aquesta pràctica es perllonga de forma continua des de la primera fins la cinquena sessió d'acord al següent calendari:

1^a sessió. Preparació cèl.lules competents i transformació.

2^a sessió. Rèplica en placa de transformants i inoculació en medi líquid.

3^a sessió. Minipreparació de DNA plasmídic dels transformants crescuts en medi líquid. Lectura de les rèpliques en placa.

4^a sessió. Digestió DNA plasmídic amb enzims de restricció. Preparació gel agarosa.

5^a sessió. Electroforesi en gel agarosa. Avaluació resultats.

Pràctica 2 (3h). Obtenció i anàlisi espectrofotomètrica de DNA genòmic

Es realitzarà una preparació de DNA genòmic a partir de cèl.lules d'*E. coli* (alternativament, a partir de fetge de rata) i s'obtindrà l'espectre d'absorció a l'ultraviolat. Amb les mesures d'absorbància a 260, 280 i 230 nm es quantificarà i determinarà la puresa de la preparació obtinguda. S'observarà l'efecte hipercròmic per desnaturalització del DNA.

1^a sessió. Extracció DNA genòmic.

4^o sessió. Anàlisi espectrofotomètrica.

5^a sessió. Avaluació resultats.

Pràctica 3 (3h). Superhelicitat del DNA

S'analitzarà la topologia d'un pDNA mitjançant un assaig cinètic amb topoisomerasa I. Les reaccions es comprovaran per electroforesi en gel d'agarosa.

2^a sessió. Assaig amb Topoisomerasa I. Preparació gel agarosa.

3^a sessió. Electroforesi en gel agarosa.

5^a sessió. Avaluació resultats.

Microbiologia Molecular

El mòdul de Microbiologia Molecular s'organitza en 5 sessions. Les pràctiques realitzades en aquestes sessions permetran a l'alumne/a conèixer les tècniques bàsiques de transferència de DNA en bacteris, els mecanismes de mutagènesis dirigida i a l'atzar utilitzats de forma habitual per a la modificació genètica de procarïotes i els mecanismes que permeten l'estudi i determinació de l'expressió gènica i de la seva regulació en bacteris. Tots aquests continguts s'agruparan en les 4 pràctiques que es llisten a continuació.

Pràctica 1 (4h) Transferència de material genètic en procariotes

Es treballaran diferents metodologies per a la incorporació de DNA exogen en bacteris, com ara mecanismes de transformació, conjugació biparental, conjugació triparental, i transducció de marcadors entre bacteris.

Pràctica 2 (2h). Processos de mutagènesis i recombinació per a l'obtenció de noves soques

S'aplicaran processos bàsics per al canvi del material genètic bacterià com ara experiments d'obtenció de mutants espontanis, de mutagènesis dirigida, o d'integració i/o substitució de material genètic per recombinació.

Pràctica 3 (4h). Ús d'elements genètics mòbils per a l'obtenció de mutants

Usaran i descriuran metodologies basades en l'ús elements genètics mòbils per a la manipulació genètica bacteriana. Es descriurà la tipologia de salts d'aquests elements així com la seva freqüència de moviment.

Pràctica 4 (2h). Control de l'expressió gènica en procariotes

S'aplicaran eines per a la quantificació de l'expressió gènica bacteriana, i s'usaran aquestes metodologies per a l'estudi de promotors regulats identificant els mecanismes que en controlen la seva expressió gènica.

Bioreactors

Les pràctiques s'organitzen en 4 sessions de 3 h.

Pràctica 1 (3h) + Pràctica 2 (3h). Reactor Continua de Tanc Agitat (RCTA)

S'aprèn el funcionament i les principals característiques d'un bioreactor de tipus RCTA. Es determina la cinètica de creixement d'una soca de llevats. S'utilitzen les tècniques d'estímul-resposta per determinar la distribució de temps de residència del bioreactor, i analitzar el seu comportament hidrodinàmic, en particular les característiques de mescla. S'integren tots aquests coneixements en les equacions de disseny de bioreactors de tipus RCTA.

Pràctica 3 (3h) + Pràctica 4 (3h). Reactor "Air-lift".

S'aprenen les bases de funcionament d'un bioreactor de tipus "Air-lift", i els diferents elements que intervenen en el seu disseny. S'utilitzen les tècniques experimentals de determinació del coeficient de transferència d'oxigen entre una fase gas i una líquida, $k_L a$. S'estudia la influència de les condicions d'operació del bioreactor sobre les propietats de transferència de matèria gas-líquid.

S'analitza la metodologia per determinar el consum d'oxigen d'un cultiu de llevats.

Mètodes Numèrics i Aplicacions Informàtiques

S'organitzen en 5 sessions de dues hores i mitja que es fan a l'aula de informàtica.

Pràctica 1 (2.5h) Introducció.

L'objectiu d'aquesta pràctica es divideix en dues parts, ambdues són un recordatori. La primera és fer un breu repàs de EXCEL, que entenem que tothom coneix ni que sigui de forma inicial. La segona part, consisteix en veure com podem adaptar un full de càlcul per a tècniques de càlcul numèric.

Pràctica 2 (2.5h) Errors.

L'objectiu d'aquesta pràctica és conèixer quines limitacions ens donen els errors numèrics, aprendre a conviure, i tractar amb ells.

Pràctica 3 (2.5h) Zeros de funcions.

L'objectiu d'aquesta pràctica és conèixer com podem utilitzar l'EXCEL per trobar zeros de funcions i implementar el Mètode de Newton, Bisecció i d'altres en casos senzills per comprovar el que s'ha fet a teoria. També es combinarà la implementació i algunes eines de l'EXCEL per a casos més difícils i reals per veure les carències, subtilitats i possibles millores del mètode.

Pràctica 4 (2.5h) Integració.

L'objectiu d'aquesta pràctica és aprendre com podem utilitzar l'EXCEL per programar mètodes d'integració numèrica. Introduïrem els mètodes de Trapezi i Simpson, simples i compostos explicats a teoria. Per acabar farem el Mètode de Romberg.

Pràctica 5 (2.5h) Equacions diferencials.

L'objectiu d'aquesta pràctica és adaptar l'EXCEL per programar mètodes de resolució numèrica d'equacions diferencials. Farem els mètodes de Euler, Taylor i Runge-Kutta 4.

Metodologia

L'assistència a les classes d'aquesta assignatura és obligatòria atès que impliquen una adquisició de competències basades en el treball pràctic.

Biologia i Genètica Molecular, Tècniques de DNA Recombinant, Microbiologia Molecular i Bioreactors

Classes pràctiques de laboratori i anàlisi de dades.

Els alumnes realitzen el treball experimental en grups de 2 i sota la supervisió del professor responsable.

Els protocols de pràctiques i, si és el cas, els qüestionaris de resposta, estaran disponibles en el Campus Virtual de l'assignatura

Abans de començar una sessió de pràctiques l'alumne ha d'haver llegit el protocol i conèixer per tant, els objectius de la pràctica, els fonaments i els procediments que ha de realitzar.

Si és el cas, ha de conèixer les mesures de seguretat específiques i de tractament de residus.

En acabar la realització de les pràctiques del mòdul de Bioreactors, els alumnes hauran de treballar amb les dades obtingudes i presentar els corresponents informes.

A les sessions de pràctiques cal portar:

- Protocol i, si és el cas, el qüestionari.
- Una llibreta per a recollir la informació del treball experimental.
- Bata de laboratori.
- Ulleres de protecció.
- Retolador permanent.

Mètodes Numèrics i Aplicacions Informàtiques

Classes pràctiques a les aules d'informàtica de la facultat.

Els alumnes realitzen el treball proposat al guió de pràctiques en grups de 2, com a molt i en funció de la disponibilitat d'ordinadors, sota la supervisió i direcció del professor responsable.

Els guions de pràctiques i, si és el cas, les respostes als problemes proposats, estaran disponibles al Campus Virtual de l'assignatura.

Abans de començar una sessió de pràctiques l'alumne haurà d'haver llegit el guió i conèixer per tant, els objectius de la pràctica i els fonaments del que ha de realitzar.

A les sessions de pràctiques cal portar:

- El guió de la pràctica i, si és el cas, el qüestionari.

Activitats formatives

Títol	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Tipus: Dirigides			
Classes pràctiques de laboratori i a l'aula d'informàtica	54,5	2,18	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16
Tipus: Autònomes			
Estudi	6,5	0,26	3, 7, 8, 9, 11, 12, 13

Avaluació

Atès que l'assistència a les activitats programades en aquestes assignatures és obligatòria, l'absència a alguna d'elles ha de ser justificada. Per a poder superar l'assignatura es requereix una assistència global de com a mínim el 80% de les sessions programades i obtenir la qualificació mínima de 4 per a cada mòdul. Es considerarà que un estudiant obté la qualificació de "No avaluable" quan ha assistit a menys d'un 20 % de les sessions programades.

Els alumnes que no obtinguin la qualificació mínima requerida per a poder superar cada un dels mòduls del laboratori integrat, no aprovaran l'assignatura. En aquest cas, la qualificació final màxima de l'assignatura serà un 4.

En el cas que el Laboratori Integrat estigui diferenciat en mòduls, a partir de la segona matrícula, els alumnes repetidors tan sols s'hauran d'avaluar del mòduls concrets que no han estat superats.

Aquesta exempció es mantindrà per un període de tres matrícules addicionals, participant en un nombre d'activitats d'avaluació que no li puguin concedir, en el millor dels casos, la qualificació d'aprovat.

L'avaluació de cada mòdul és realitzarà independentment, seguint el criteris que es detallen a continuació.

L'avaluació final de l'assignatura s'obtindrà de la mitja ponderada de l'avaluació dels diferents mòduls (33,3%, 22.2%, 22.2%, 22.2%).

Biologia i Genètica Molecular, i Tècniques de DNA Recombinant

Aquest mòdul s'avaluarà (a) mitjançant un breu examen individual (durada màxima 1 hora) en el que s'hauran de resoldre qüestions i exercicis relacionats amb les pràctiques realitzades, i (b) de forma continuada a partir dels resultats assolits al laboratori durant la realització de les pràctiques.

L'examen individual (a) es farà un cop finalitzades les sessions de pràctiques dels quatre grups (vegeu el calendari del mòdul) i el seu pes serà el 70% de la qualificació final. La nota corresponent a la modalitat (b) serà la mateixa per a ambdós alumnes que han format parella durant el treball al laboratori i tindrà un pes del 30% sobre la qualificació final del mòdul.

Microbiologia Molecular

Es tindran en compte dos aspectes diferenciats, per una banda la nota obtinguda en un qüestionari que es realitzarà al final de la sessió 5 i que es referirà a totes les pràctiques que configuren aquest mòdul, i per l'altre també es valorarà la consecució dels objectius marcats en cada una de les pràctiques programades. El qüestionari representarà un 70% de la nota final del mòdul mentre que el 30% restant dependrà de l'avaluació de l'obtenció de resultats i del treball experimental realitzat.

Bioreactors

Es tindran en compte dos aspectes diferenciats, la qualitat del treball al laboratori i de les dades experimental obtingues (50%) i l'elaboració de l'informe de les pràctiques (50%), incloent-hi les preguntes que es proposen en els mateixos.

Els informes s'hauran d'entregar abans d'una data determinada, que es donarà a conèixer al principi del laboratori. El retràs no justificat en la presentació dels informes implicarà una penalització en la puntuació dels mateixos.

Mètodes Numèrics i Aplicacions Informàtiques

El pes principal de la nota (85%) d'aquest mòdul el donarà un examen final individual en el qual l'alumne haurà de programar un mètode numèric similar als que s'han realitzat a les pràctiques i aplicar-ho a una sèrie d'exercicis proposats. Els qüestionaris de les pràctiques també tindran una participació a la nota final del mòdul (15%).

Activitats d'avaluació

Títol	Pes	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Avaluació continuada Biologia i Genètica Molecular, i Tècniques de DNA Recombinant	1.00	0	0	1, 4, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15
Avaluació continuada Bioreactors	1.11	0	0	1, 3, 4, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15
Avaluació continuada Microbiologia Molecular	0.67	0	0	1, 2, 4, 8, 12, 13, 16
Examen Biologia i Genètica Molecular, i Tècniques de DNA Recombinant	2.33	1	0,04	5, 6, 8, 11, 12, 13, 14, 15
Examen Mètodes Numèrics i Aplicacions Informàtiques	1.89	1	0,04	3, 8, 11, 12, 13
Informe Bioreactors	1.11	10	0,4	3, 7, 8, 10, 11, 12, 13
Questionari Mètodes Numèrics i Aplicacions Informàtiques	0.33	1	0,04	3, 8, 11, 12, 13
Questionari Microbiologia Molecular	1.55	1	0,04	2, 8, 16

Bibliografia

La bibliografia i els enllaços web s'indiquen en els protocols de pràctiques o, si és el cas, en la Guia Docent de la corresponent assignatura de teoria.