

Eines per a la Recerca Biomèdica

2015/2016

Codi: 103974

Crèdits: 6

Titulació	Tipus	Curs	Semestre
2502445 Veterinària	OT	5	0

Professor de contacte

Nom: Antonio Casamayor Gracia

Correu electrònic: Antonio.Casamayor@uab.cat

Utilització de llengües

Llengua vehicular majoritària: català (cat)

Prerequisits

No hi ha prerequisits oficials. És convenient, però, que l'estudiant hagi cursat les matèries de **Bioquímica**, **Laboratori Integrat**, **Fisiologia**, **Farmacologia** així com **Genètica i millora**.

Objectius

L'objectiu d'aquesta matèria és proporcionar a l'alumne un coneixement bàsic de les principals tècniques d'estudi aplicables a la recerca bàsica i aplicada en biomedicina. Es contemplen les tècniques corresponents als diferents àmbits d'aplicació: nivell molecular (proteïnes, proteomes, àcids nucleics, genomes), cel·lular (cultius cel·lulars i tècniques de biologia cel·lular), tissular i animal *in vivo* i *ex vivo*.

Competències

- Analitzar, sintetitzar, resoldre problemes i prendre decisions.
- Demostrar que es coneixen i es comprenen les bases físiques, químiques i moleculars dels principals processos que tenen lloc a l'organisme animal.

Resultats d'aprenentatge

1. Analitzar, sintetitzar, resoldre problemes i prendre decisions.
2. Utilitzar les tècniques adequades en els estudis funcionals *in vivo* i *ex vivo*.
3. Utilitzar les tècniques de biologia molecular.
4. Utilitzar les tècniques emprades en la caracterització estructural i funcional de les proteïnes.
5. Utilitzar les tècniques per a l'obtenció i manteniment de cultius cel·lulars i la caracterització de cèl·lules en cultiu.

Continguts

PROGRAMA DE TEORIA

T1) INTRODUCCIÓ: Visió general de les tècniques que s'apliquen en recerca. Les tècniques de laboratori com a eina fonamental per l'avançament del coneixement dels sistemes biològics. Estratègia i disseny experimental. Interpretació de resultats.

T2) ESTUDI DE LA FUNCIO DE LES PROTEÏNES:

Purificació i anàlisi de proteïnes.

Tècniques físiques de separació: centrifugació, precipitació, filtració, etc.

Electroforesi: Mono i bidimensional, Capil·lar.

Cromatografia: Classificació segons el criteri de separació, HPLC, intercanvi iònic, afinitat, etc.

Tècniques immunològiques: producció de anticossos, Western blot, IP, Elisa, RIA.

Fotometria i tècniques enzimàtiques. Fluorimetria. Llei de Lambert-Beer. Com es calcula l'activitat d'un enzim.

Estudi de la localització intracel·lular de proteïnes.

Proteòmica (inclou espectrometria de masses).

T3) ESTUDI DELS ÀCIDS NUCLEICS: BIOLOGIA MOLECULAR

Enzims d'ús freqüent: Endonucleases de restricció. DNA ligases. La polinucleòtid cinasa. DNA terminal transferasa. DNA polimerases. Transcriptasa inversa. Característiques i aplicacions.

Tècniques de Biologia Molecular. La reacció de polimerització en cadena (PCR) i derivats (rtPCR, qrtPCR, etc). Tipus, disseny i síntesi de oligonucleòtids. Marcatge dels àcids nucleics. Tècniques basades en la separació dels àcids nucleics mitjançant electroforesi. *Microarrays* de DNA. Utilitats. Seqüenciació del DNA. Principis i utilitats.

Clonació del DNA (TOPO, Gateway, ..). Vectors de clonació i d'expressió. Tècniques de mutagènesi dirigida.

Tècniques de manipulació gènica (TALEN, CRISPR/Cas, ZFN) i alteracions de l'expressió (knockout, knockin and conditional gene modifications).

T4) ESTUDI DEL GENOMA: GENÒMICA ESTRUCTURAL I FUNCIONAL

Nous mètodes d'anàlisi de la variabilitat genètica. Marcadors genètics. Genotipat de SNPs. Detecció i anàlisi de CNVs. Mètodes i aplicacions de seqüenciació paral·lela massiva (NGS).

Anàlisi del genoma de les espècies domèstiques. Bases de dades genòmiques en animals. Utilització d'eines Bioinformàtiques. Genòmica funcional. Estratègies per identificar gens que determinen malalties. Base genètica de les malalties complexes. Epigenòmica. Metagenòmica i el anàlisi dels microbiomes.

PROGRAMA DE SEMINARIS

S1) Discussió dels resultats de les pràctiques P1 i P2 (estudi de l'excitabilitat i funció cel·lular): banys d'òrgans, *patch clamp*, microelectrodes, tècniques d'imatge, tècniques electroquímiques.

* Cas a entregar/presentar amb dades generades amb la simulació.

S2) Citometria de flux: fonaments i aplicacions. Caracterització fenotípica mitjançant citometria de flux.

Fonaments de la tècnica, aplicacions pràctiques. Separació de poblacions específiques: *Cell sorting*.

* *Entrega de informe de dades i qüestionari sobre un cas pràctic d'un experiment de citometria.*

S3) Discussió dels resultats de les pràctiques P3.

S4) Discussió de articles de recerca (T2).

S5) Resolució problema disseny primers (T3).

S6) Seminari Vet. Convidat: *Bases Moleculares del Xenotransplante.*

PROGRAMA DE PRÀCTIQUES

P1) Estudi de l'excitabilitat i funció cel·lular.

P1.1.- Estudis sobre òrgan aïllat. Estudi farmacològic de receptors en una preparació biològica.

P1.2.- Electrofisiologia (microelèctrodes). Modificacions de l'excitabilitat (canvis de potencial de membrana). Anàlisi dels mecanismes implicats.

P1.3.- Calcium Imaging. Oscil·lacions del calci citosòlic induïdes per neurotransmissors i fàrmacs.

P2) Tècnica del *patch-clamp*. Simulació.

P2.1.- Estudi farmacològic d'un canal.

P2.2.- Caracterització del corrent de Sodi.

P3) Citometria de flux.

P3.1.- Selecció de marcadors i fluorocroms. Marcatge de cèl·lules. Compensacions i ajustament del còmput.

P3.2.- Anàlisi de dades de citometria.

P4) Tècniques de purificació i estructura de proteïnes.

P4.1.- Simulació de purificació de proteïnes per ordinador.

P4.2.- Utilització de bases de dades de proteïnes i de les seves estructures.

P5) Introducció a la bioinformàtica.

P5.1.- Bancs de dades de seqüències de DNA i eines d'anàlisi.

P5.2.- Anàlisi de l'expressió gènica mitjançant PCR i microarrays de DNA.

P6) Bases de dades de genòmica animal.

P6.1.- Bancs de dades de genòmica i eines d'anàlisi.

P6.2.- Resolució d'un cas pràctic.

Metodologia

La metodologia utilitzada en aquesta assignatura per assolir el procés d'aprenentatge combina les classes teòriques, seminaris, sessions pràctiques al laboratori i la resolució de problemes/casos.

1. Classes teòriques i seminaris.

Classes presencials amb suport de TIC on s'expliquen els conceptes bàsics de la matèria. Seran participatives i permetran a l'alumne adquirir els coneixements bàsics i aplicats de la matèria.

2. Classes de pràctiques de laboratori.

Adquisició d'habilitats de treball en el laboratori i comprensió experimental dels conceptes explicats en les classes presencials.

3. Estudi.

El treball autònom de l'alumne consistirà en l'estudi personal del material impartit a les classes teòriques, incentivat per la resolució de problemes / casos curts proposats durant les classes de teoria. La lectura comprensiva del material recomanat i la recerca de publicacions rellevants (articles científics i revisions) permetrà a l'alumne assimilar i comprendre els continguts teòrics abordats així com relacionar els conceptes estudiats amb els seus aspectes pràctics i aplicats a la recerca biomèdica.

4. Resolució de problemes i casos.

Treball autònom de l'estudiant, individual o en grup, per a la resolució de casos i problemes presentats pel professor.

5. Avaluació.

Proves parcials teòriques. Avaluació continuada durant el curs durant les pràctiques, seminaris d'anàlisi de resultats i resolució de problemes.

Activitats formatives

Títol	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Tipus: Dirigides			

Classes de teoria	19	0,76	3, 4
Pràctiques laboratori	5	0,2	1, 2, 5
Pràctiques sala ordinadors	9	0,36	1, 3, 4
Seminaris	11	0,44	1, 2, 3, 4, 5
Tipus: Supervisades			
Tutories	6	0,24	1
Tipus: Autònomes			
Estudi, exercicis i consulta de bibliògrafa	96	3,84	1, 2, 3, 4

Avaluació

La puntuació màxima que es podrà obtenir és de 10 punts.

L'assignatura s'aprovarà amb una puntuació global de 5,0 o superior.

El sistema d'avaluació s'organitza en cinc parts i la nota final serà la nota ponderada de cadascuna de les cinc parts, segons el nombre de ECTS.

Part 1 (1 ECTS): Estudis en òrgan aïllat/Ca imaging + Patch Clamp (P1+P2+S1)

Part 2 (1 ECTS): Citometria (P3+S2+S3)

Part 3 (1 ECTS): Estudi de les proteïnes (T2+S4+P4).

Part 4 (2 ECTS): Estudi dels àc. nucleics (T3+S5+P5).

Part 5 (1 ECTS): Estudi dels genomes (T4+P6).

La qualificació de les parts 1 i 2 s'obtindrà a partir dels exercicis d'anàlisi de dades que es realitzaran durant els seminaris. 100% de la nota de les parts 1 i 2.

La qualificació de les parts 3, 4 i 5 s'obtindrà a partir de dos exàmens (50% de la nota) i exercicis realitzats en el curs en forma d'avaluació continuada (50% de la nota).

Els examens seran tipus test i s'organitzaran de la manera següent:

Examen parcial 1: Continguts de les parts 3 + 4.

Examen parcial 2: Continguts de la part 5.

Activitats d'avaluació

Títol	Pes	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Examen parcial. Estudi de les proteïnes i els àc. nucleics (T2+T3).	25%	2	0,08	1, 3, 4
Examen parcial. Estudi dels genomes (T4).	16.66%	2	0,08	1, 3
Exercicis amb les dades de la pràctica de citometria i entrega de qüestionari sobre un cas pràctic (a realitzar durant els seminaris S2+S3).	16.66%	0	0	1, 5

Exercicis amb les dades de pràctiques P1+P2 i resolució d'un cas pràctic (a realitzar durant els seminaris S1).	16.66%	0	0	1, 2
Exercicis d'avaluació continuada (Part 3)	8.33%	0	0	1, 4
Exercicis d'avaluació continuada (Part 4)	16.66%	0	0	1, 3

Bibliografia

Llibres:

Richard J. Reece. ***Analysis of Genes and Genomes***. 2nd Edition. Wiley. 2014.

Christopher Howe. ***Gene Cloning and Manipulation***. 2nd Edition. Cambridge University Press. 2007.

ANDY PRIMROSE and RICHARD TWYMAN. ***Principles of Gene Manipulation and Genomics***. 7th Edition. Wiley-Blackwell. 2006.

Terry Brown. ***Gene Cloning and DNA Analysis: An Introduction***. 6th Edition. Wiley-Blackwell. 2010.

Thieman W J, Palladino M A. ***Introducción a la Biotecnología***. 2^a Edición. W.J. Pearson. 2010.

Hartl D L, Ruvo M. ***Genetics: Analysis of Genes and Genomes***. 8th Edition. Jones & Bartlett Learning. 2011.

Burgess RR, Deutscher MP. Methods in Enzimology. Volume 463, Guide to Protein Purification, 2nd Edition (2009) <http://www.sciencedirect.com/science/bookseries/00766879/463>

Enllaços web:

http://www.agbooth.com/pp_java/

<http://www.uniprot.org/>

<http://www.genome.jp/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

<http://www.ebi.ac.uk/>

<http://www.expasy.org/>