

Tècniques instrumentals bàsiques

Codi: 100879
Crèdits: 3

Titulació	Tipus	Curs	Semestre
2500252 Bioquímica	OB	1	1

Professor de contacte

Nom: Pedro Suau León

Correu electrònic: Pere.Suau@uab.cat

Utilització d'idiomes a l'assignatura

Llengua vehicular majoritària: català (cat)

Grup íntegre en anglès: No

Grup íntegre en català: No

Grup íntegre en espanyol: No

Prerequisits

No hi ha prerequisits per aquesta assignatura. ES recomana repasar els conceptes bàsics de química i biologia adquirits durant el batxillerat

Objectius

Aquesta assignatura s'imparteix en el Grau de Bioquímica dins de la matèria de Mètodes Experimentals. És una assignatura de primer any (primer semestre), obligatòria i de 3 ECTS. S'imparteix a un grup d'uns 60 alumnes, amb una formació de base possiblement diversa.

Aquesta assignatura amb contingut exclusivament teòric forma part d'una matèria on la resta de les assignatures són eminentment pràctiques. La matèria, Mètodes Experimentals, pretén potenciar el caràcter eminentment experimental de la Bioquímica, accentuant el seu caràcter interdisciplinari, per a això és necessari el coneixement de les bases teòriques de les tècniques, així com la seva aplicació. És en aquest context, on l'assignatura de Tècniques Bàsiques, defineix els seus objectius formatius.

Un altre aspecte important que determina els objectius, i sobretot, els continguts d'aquesta assignatura és l'existència de l'assignatura de Tècniques Avançades, que s'imparteix a segon any. Les dues assignatures són complementàries i entre les dues es pretén cobrir el conjunt de tècniques de base química, biològica i física que necessita conèixer i saber utilitzar un bioquímic.

L'objectiu general és que l'alumne conegui les principals tècniques instrumentals que es desenvolupen al laboratori i que pugui necessitar a la llarg dels seus estudis i activitat professional. Aquest objectiu es pot concretar en:

- Adquirir i comprendre el fonament teòric de les principals tècniques instrumentals
- Aplicació d'aquestes tècniques en l'àmbit de la Bioquímica.
- Potenciar la capacitat d'auto-aprenentatge de l'alumne. L'alumne ha d'aprendre a obtenir informació i adquirir l'hàbit d'usar aquesta informació críticament.
- Augmentar l'interès de l'alumne per el aspecte tècnic de la ciència.

Competències

- Aplicar les tècniques principals d'utilització en sistemes biològics: mètodes de separació i caracterització de biomolècules, cultius cel·lulars, tècniques de DNA i proteïnes recombinants, tècniques immunològiques, tècniques de microscòpia...
- Col·laborar amb altres companys de treball.
- Dissenyar experiments i comprendre les limitacions de l'aproximació experimental.
- Identificar l'estructura molecular i explicar la reactivitat de les diferents biomolècules: carbohidrats, lípids, proteïnes i àcids nucleics.
- Interpretar resultats experimentals i identificar elements consistents i inconsistents.
- Pensar d'una forma integrada i abordar els problemes des de diferents perspectives.
- Percebre clarament els avenços actuals i els possibles desenvolupaments futurs a partir de la revisió de la literatura científica i tècnica de l'àrea de bioquímica i biologia molecular.

Resultats d'aprenentatge

1. Col·laborar amb altres companys de treball.
2. Descriure estratègies per a la purificació de biomolècules de barreges complexes.
3. Descriure la instrumentació utilitzada en les diferents tècniques en bioquímica.
4. Descriure les tècniques fonamentals per a l'anàlisi, la purificació i la caracterització de biomolècules.
5. Discutir sobre les principals fonts d'informació en l'àrea de Bioquímica i Biologia Molecular
6. Dissenyar experiments i comprendre les limitacions de l'aproximació experimental.
7. Explicar el fonament teòric de les tècniques adequades per a la caracterització estructural i funcional de proteïnes i àcids nucleics, i saber-les aplicar.
8. Explicar els fonaments teòrics de les tècniques bàsiques i avançades en bioquímica.
9. Interpretar críticament la literatura científica
10. Interpretar resultats experimentals i identificar elements consistents i inconsistents.
11. Pensar d'una forma integrada i abordar els problemes des de diferents perspectives.

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 escales). Cromatografia líquida d'alta resolució (HPLC). Fonaments i característiques. Instrumentació. Cromatografia de Gasos. Exemples de purificació de macromolècules per tècniques cromatogràfiques.

Tema2: 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 d'absorció: Espectrofotòmetres. Anàlisi espectroscòpic de biopolímers.

Tema 3: Tècniques electroforètiques.

Moviment dels ions en un camp elèctric. Electroforesi de proteïnes: Electroforesi SDS-PAGE, Electroenfoque, Bidimensional, Nativa. Electroforesi d'àcids nucleics, desnaturalitzants, camp polsant 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. Immunoelctroforesi. Ria. Elisa.

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

Fonaments de la tècnica. Especificitat i rendiment. Disseny dels encebadors (programes informàtics). Efecte "plateau". Optimització de la reacció: Seqüenciació, Mutagènesi, PCR in situ, RT PCR, Rapid Amplification of cDNA ends (RACE), Real time PCR, Ligation mediated PCR (LM PCR). Aplicacions clíniques: diagnosi d'infeccions víriques, detecció de RFLP i malalties hereditàries. Aplicacions legals.

Tema 6: Isòtops radioactius.

Cinètica de desintegració. Isòtops utilitzats en Bioquímica. Procediments i mètodes de marcatge. Marcatge in vivo. Marcatge d'àcids nucleics. Marcatge de proteïnes. Detecció de la radiació. Detectors de ionització. Comptadors de centelleig. Autoradiografia. Mètodes alternatius a la autoradiografia (phosphorimaging). Sistemes quimioluminiscentes com a alternativa als isòtops radioactius. Protecció en l'ús d'isòtops radioactius.

Metodologia

Classes magistrals. En alguns temes es resoldran problemes intercalats amb els conceptes teòrics per facilitar la seva comprensió.

En funció de les necessitats del desenvolupament de l'assignatura es programaran tutories per a la discussió d'aspectes concrets de la matèria.

Activitats formatives

Títol	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Tipus: Dirigides			
clases teóricas	22	0,88	2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11
Estudio	43	1,72	1, 5, 6, 9, 10, 11
Tipus: Supervisades			
Discusión y dudas de la asignatura	6	0,24	1, 5, 6, 9, 10, 11

Avaluació

Mòdul de proves escrites.

Avaluació final: En finalitzar el període docent es realitzarà una prova escrita sobre la totalitat del contingut de l'assignatura.

Avaluació de recuperació: Es realitzarà una avaluació de recuperació que consistirà en una prova escrita d'iguals característiques que l'avaluació final. Podran presentar-se a aquesta prova els alumnes que no hagin superat l'assignatura mitjançant l'avaluació final o aquells que vulguin millorar la nota. L'opció de millorar nota anul·la la nota anterior.

Consideracions generals:

Criteris d'avaluació: s'avaluen individualment els coneixements de la matèria impartida adquirits pels alumnes, així com les seves capacitats de relacionar conceptes, d'anàlisi, de síntesi i de raonament crític.

La revisió es realitzarà en dia i lloc concertat, tal com s'especifica a la normativa de la Facultat.

Definició del NO AVALUABLE: El no avaluable correspon als alumnes que no s'hagin presentat a ninguna de les proves.

Casos especials: Els alumnes que per una causa documentalment justificada no puguin assistir a alguna de les proves escrites hauran de consultar amb el professor de la assignatura la possibilitat de recuperar aquesta prova.

En tots els casos s'aplicarà la Normativa d'avaluació de la Facultat.

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, 8, 9, 10, 11

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. 3ª 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>.