

Técnicas instrumentales

Código: 100998
Créditos ECTS: 6

Titulación	Tipo	Curso	Semestre
2500502 Microbiología	FB	2	1

Contacto

Nombre: Inmaculada Ponte Marull
Correo electrónico: Inma.Ponte@uab.cat

Uso de idiomas

Lengua vehicular mayoritaria: catalán (cat)
Algún grupo íntegramente en inglés: No
Algún grupo íntegramente en catalán: No
Algún grupo íntegramente en español: No

Prerequisitos

Se recomienda repasar los conceptos básicos de Bioquímica de primer curso, sobre todo las características física _químicas de las macromoléculas.

Se recomienda cursar esta asignatura a la vez que la asignatura de laboratorio integrado III que se imparte en el mismo semestre de este grado.

Objetivos y contextualización

MODULO II: TÉCNICAS INSTRUMENTALES EN BIOQUÍMICA

El objetivo general es que el alumno conozca las técnicas instrumentales que se desarrollan en un laboratorio y que pueden 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
- Aplicación de estas técnicas en el ámbito de la Microbiología.
- Potenciar la capacidad de autoaprendizaje del alumno. El alumno debe aprender a obtener información y adquirir el hábito de usar esta información críticamente.
- Aumentar el interés del alumno por el aspecto técnico de la ciencia.

Contenido

Tema 1: Espectroscopia de absorción electrónica. Propiedades de la radiación electromagnética. Interacción de la radiación con la materia. Absorción / dispersión. Principios básicos Espectroscopia de absorción electrónica Aspectos cuantitativos de las medidas de absorción (Ley de Lambert-Beer). Espectrofotómetros. Análisis espectroscópico de biopolímeros. Fundamentos de la espectrofluorimetría. Espectrofluorímetro. Aplicaciones.

Tema 2: Centrifugación. Fundamentos. Coeficiente de sedimentación. Factores de los que depende el coeficiente de sedimentación. Ecuación de Svedberg. Instrumentación: ultracentrífuga preparativa y analíticas. Rotores de centrífuga preparativa: flotantes, angulares, verticales. Ultracentrifugación diferencial (fraccionamiento celular). Ultracentrifugación zonal en gradientes de densidad.

Tema 3: Técnicas cromatográficas. Introducción. Fundamentos y características. Tipo de cromatografía: de reparto, de filtración en gel, de intercambio iónico, hidrofóbica, afinidad. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Cromatografía de gases.

Tema 4: Estrategias de purificación de macromoléculas. Etapas de purificación. Optimización de cada etapa. Técnicas preparativas de proteínas. Técnicas preparativas de ácidos nucleicos: DNA plasmídico, DNA de bacteriófago, DNA genómico, RNA total y RNA mensajero.

Tema 5: Técnicas electroforéticas. Electroforesis de proteínas: Electroforesis SDS-PAGE, Electroenfoque, Electroforesis Bidimensional, Nativa. Electroforesis de ácidos nucleicos: nativas, desnaturalizantes, campo pulsante, gradiente térmico, electroelución. Tinciones y métodos de detección.

Tema 6: Técnicas de hibridación e identificación específica de moléculas: Western, Southern, Northern, Southwestern, Microarrays, FISH, hibridación in situ.

Tema 7: Reacción en cadena de la polimerasa: PCR. Fundamentos de la técnica. Especificidad y rendimiento. Diseño de los cebadores. Optimización de la reacción. Mutagénesis, PCR in situ, RT PCR, Real time PCR, Ligation mediated PCR (LM PCR), RACE. Ejemplos de algunas aplicaciones.

Tema 8: Tecnología del DNA Recombinante. Modificación in vitro de ácidos nucleicos mediante diferentes tipos de enzimas: endonucleasas (nucleasa S1, Bal 31, enzimas de restricción), exonucleasa, polimerasas, ligasas, sistema CRISPR, etc. Esquema general de una clonación. Diferentes Tipos de vector. Expresión de proteínas recombinantes. Librerías para la secuenciación genómica. Librerías de c-DNA versus RNA-seq. concepto de abundancia y complejidad. Técnica de edición génica CRISPR-cas9

Tema 9: Espectrometría de masas. Cálculo del peso molecular por espectrometría de masas. Técnicas para biopolímeros.

Tema 10: Isótopos radiactivos. Cinética de desintegración. Isótopos utilizados en Bioquímica. Marcaje in vivo. Marcado de ácidos nucleicos. Marcaje de proteínas. Detección de la radiación. Detectores de ionización. Contadores de centelleo. Autorradiografía. Métodos alternativos a la autorradiografía (phosphorimaging). Protección en el uso de isótopos radiactivos. Sistemas quimioluminiscencia como alternativa a los isótopos radiactivos.

Tema 11: Técnicas inmunológicas. Preparación de anticuerpos monoclonales y policlonales. Reacción antígeno-anticuerpo. Sistemas de detección. Inmunoelectroforesis. Inmunoprecipitación. Ria, ChIP y ChIP donde CHIP.

Tema 12: Microscópica. Fundamentos microscopio electrónico (TEM / SEM). Métodos de preparación de las muestras. Mejora del contraste.