

Tècniques instrumentals

Codi: 100998

Crèdits: 6

Titulació	Tipus	Curs	Semestre
2500502 Microbiologia	FB	2	1

La metodologia docent i l'avaluació proposades a la guia poden experimentar alguna modificació en funció de les restriccions a la presencialitat que imposin les autoritats sanitàries.

Professor/a de contacte

Nom: Inmaculada Ponte Marull

Correu electrònic: Inma.Ponte@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

Es recomana repassar els conceptes bàsics de Bioquímica de primer curs, sobretot les característiques física i química de les macromolècules.

Es recomana cursar aquesta assignatura a la vegada que l'assignatura de laboratori integrat III que s'imparteix en el mateix semestre d'aquest grau.

Objectius

L'objectiu general és que l'alumne conegui les principals tècniques instrumentals que es desenvolupen en un laboratori de microbiologia i que poden 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 Microbiologia.
- Potenciar la capacitat d'autoaprenentatge 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 l'aspecte tècnic de la ciència.

Competències

- Aplicar les metodologies adequades per aïllar, analitzar, observar, cultivar, identificar i conservar microorganismes.
- Identificar i resoldre problemes.
- Utilitzar tècniques moleculars i immunològiques per a la caracterització de microorganismes i materials d'origen biològic.

Resultats d'aprenentatge

1. Assimilar els principis bàsics de l'espectrometria de masses i les seves aplicacions.
2. Conèixer el funcionament d'equips de microscòpia, cromatografia, filtració, diàlisi, citometria, espectroscòpia, electroforesi, amplificació i seqüenciació de DNA, entre d'altres.
3. Conèixer les bases de les tècniques que s'utilitzen per a l'anàlisi dels components cel·lulars, dels virus i dels productes microbians.
4. Identificar els medis de cultiu, els tipus de cultiu i la separació i el clonatge de cèl·lules eucariotes i la generació d'anticossos monoclonals.
5. Identificar els principis i els mètodes de preparació de mostres en microscòpia electrònica.
6. Identificar i resoldre problemes.
7. Identificar les tècniques adequades per detectar, quantificar i purificar molècules biològiques i per determinar l'estructura de les proteïnes.

Continguts

Tema 1: 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). Espectrofotòmetres. Anàlisi espectroscòpica de biopolímers. Fonaments de l'espectrofluorimetria. Espectrofluorímetre. Aplicacions.

Tema 2: Centrifugació. Fonaments. Coeficient de sedimentació. Factors de què depèn el coeficient de sedimentació. Equació de Svedberg. Instrumentació: ultracentrífuga preparativa i analítiques. Tècniques i tipus de centrifugació.

Tema 3: Tècniques cromatogràfiques. Introducció. Fonaments i característiques. Tipus de cromatografia: de repartiment, de filtració en gel, d'intercanvi iònic, hidrofòbica, afinitat. Cromatografia líquida d'alta resolució (HPLC). Cromatografia de gasos.

Tema 4: Estratègies de purificació de macromolècules. Etapes de purificació. Optimització de cada etapa. Tècniques preparatives de proteïnes. Tècniques preparatives d'àcids nucleics: DNA plasmídic, DNA de bacteriòfag, DNA genòmic, RNA total i RNA missatger.

Tema 5: Tècniques electroforètiques. Electroforesi de proteïnes i d'àcids nucleics.

Tema 6: Tècniques d'hibridació per la identificació específica de molècules: Western, Southern, Northern, Southwestern, Microarrays, FISH, hibridació *insitu*, etc.

Tema 7: Reacció en cadena de la polimerasa: PCR. Fonaments de la tècnica. Especificitat i rendiment. Disseny dels encebadors. Optimització de la reacció. Tipus i tècniques basats en la reacció de PCR.

Tema 8: Tecnologia del DNA Recombinant.

Tema 9: Espectrometria de masses. Identificació Bacteriana per Maldi. Càlcul del pes molecular per espectrometria de masses. Tècniques per biopolímers.

Tema 10: Isòtops radioactius. Cinètica de desintegració. Marcatge. Detecció: Comptadors de centelleig i Autoradiografia. Protecció en l'ús d'isòtops radioactius. Sistemes quimioluminescència com a alternativa als isòtops radioactius.

Tema 11: Tècniques immunològiques. Preparació d'anticossos monoclonals i policlonals. Reacció antigen-anticòs. Tècniques basades en la reacció antigen-anticòs.

Tema 12: Microscòpia. Fonaments microscopi electrònic (TEM / SEM). Mètodes de preparació de les mostres. Millora del contrast.

Llevat que les restriccions imposades per les autoritats sanitàries obliguin a una prioritització o reducció d'aquests continguts.

Metodologia

Classes de Teoria:

Es faran classes magistrals (30 hores). Mitjançant aquest sistema s'introduiran els conceptes bàsics del temari. S'intentarà, sempre que sigui possible, utilitzar material audiovisual e interactiu que ajudi a la comprensió dels conceptes.

Classes de problemes:

Al llarg del curs es dedicaran 12 hores a sessions de classes de problemes. El grup es dividirà en dos subgrups, les llistes dels quals es faran públiques a començament de curs. Els estudiants assistiran a les sessions programades pel seu grup. A la vegada, cada subgrup es dividirà en equips de treball formats per 3-4 alumnes que es mantindran durant tot el curs.

A començament de semestre es lliurarà a través del Campus Virtual el dossier d'enunciats de problemes. Els equips d'alumnes resoldran els problemes fora de l'horari de classe. A cada una de les sessions de problemes, s'escolliran a l'atzar 2-3 equips. Un representant de l'equip escollit exposarà a la pissarra la resolució d'un problema. En acabar l'exposició, el problema es discutirà i, si s'escau, es corregirà amb la participació de tots els alumnes. El professor/a vetllarà perquè tots els equips tinguin, al llarg del curs, l'oportunitat d'exposar públicament la resolució de problemes. Tal com s'indica en l'apartat d'avaluació, la resolució, exposició pública de problemes, discussió i correcció seran tingudes en compte en la qualificació final, de forma complementària a la nota obtinguda en l'avaluació individual.

Seminaris:

Aquesta activitat és una activitat supervisada pel professor que es realitza en grups (3-4 persones) i consisteix en la lectura per part dels alumnes d'articles seleccionats prèviament pel professor. Els alumnes hauran de comprendre i analitzar les tècniques utilitzades en cada article. L'objectiu d'aquesta metodologia és que l'alumne vegi exemples reals de la utilització de les tècniques explicades a classe i sàpiga reconèixer-les i interpretar-les.

Durant les 3 sessions de seminaris programades es farà una presentació, discussió i debat de les figures dels articles treballats.

Aquestes sessions tenen com a objectiu facilitar el diàleg entre el professor i els alumnes, ajudant a la comprensió dels conceptes adquirits en les classes magistrals.

La metodologia docent proposada pot experimentar alguna modificació en funció de les restriccions a la presencialitat que imposin les autoritats sanitàries.

Nota: es reservaran 15 minuts d'una classe, dins del calendari establert pel centre/titulació, per a la complementació per part de l'alumnat de les enquestes d'avaluació de l'actuació del professorat i d'avaluació de l'assignatura/mòdul.

Activitats formatives

Títol	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Tipus: Dirigides			
Classe de problemes	12	0,48	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
Classes Teoria	30	1,2	1, 2, 3, 4, 5, 7
Seminaris	3	0,12	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7

Tipus: Supervisades

Tutorias per Seminaris i problemes	10	0,4	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
Tipus: Autònomes			
Elaboració d'un treball escrit (seminari)	9	0,36	4, 5
Estudi individual de la matèria impartida	62	2,48	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
Resolució de problemes plantejats a classe	14	0,56	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7

Avaluació

1. Mòdul de Teoria (60%).

Dues proves escrites (60%). Les dues proves parcials contindran preguntes curtes que permetin relacionar conceptes, definicions (30%) i un bloc de preguntes tipus test (15%). La nota final s'obté per la mitjana de la nota obtinguda en les dues proves. Aquesta mitjana es podrà fer sempre que la nota sigui igual o superior a 4. Els alumnes que no superin cada una d'aquestes proves amb una nota igual o superior a 4 podran recuperar-les en la data programada per l'examen de recuperació al final del semestre. Per participar en la recuperació, l'alumnat ha d'haver estat prèviament avaluat en un conjunt d'activitats el pes de les quals equivalgui a un mínim de dues terceres parts de la qualificació total de l'assignatura o mòdul.

2. Mòdul de Problemes (25%). Aquest mòdul consta de dues parts:

2.1. Avaluació en equip (10% del total): Es basa en la resolució dels problemes treballats en equip i exposats a classe. Cada vegada que un equip exposa un problema rebrà una qualificació. Si un equip no és present a l'aula o es nega a exposar un problema rebrà una qualificació de 0. La qualificació final es calcularà com la mitjana entre les qualificacions dels problemes exposats per un mateix equip. La nota obtinguda serà la mateixa per a tots els membres de l'equip, sempre que tots ells hagin preparat i exposat de forma equivalent.

2.2. Avaluació individual (15% del total) mitjançant dues proves escrites. Cadascuna de les proves parcials consistirà en la resolució d'1-2 problemes. La nota final s'obté per la mitjana ponderada de la nota obtinguda en cadascuna de les dues proves. El pes de cadascun dels parcials en la nota final serà directament proporcional al nre. de classes durant les quals s'ha impartit la matèria que entra en l'examen. Aquesta mitjana es podrà fer sempre que la nota dels parcials sigui igual o superior a 4. Els alumnes que no superin cada una d'aquestes proves amb una nota igual o superior a 4 podran recuperar-les en la data programada per l'examen de recuperació al final del semestre. Per participar en la recuperació, l'alumnat ha d'haver estat prèviament avaluat en un conjunt d'activitats el pes de les quals equivalgui a un mínim de dues terceres parts de la qualificació total de l'assignatura o mòdul.

3. Seminaris

En aquest apartat s'avalua la capacitat d'anàlisi i de síntesi dels alumnes, així com les habilitats del treball en grup. L'avaluació constarà de dues parts:

3.1 La participació en la presentació, discussió, i debat dels articles a la classe del seminari(5%).

3.2 Proves escrites individuals sobre les figures i taules dels articles treballats i discutits durant la classe del seminari. (10%).

Aquestes proves tindran lloc al final de cada una de les sessions de seminaris. Les dues parts (1 i 2) són indestruïbles, de manera que l'alumne ha de participar, i ser avaluat, en totes dues per tal d'obtenir una qualificació dels seminaris. La nota obtinguda en aquest mòdul no és susceptible de recuperació

Consideracions generals sobre l'avaluació:

L'avaluació dels mòduls de Teoria i de Problemes són indestruïbles i per superar l'assignatura l'alumne ha de participar, i ser avaluat dels dos mòduls. En canvi, per superar l'assignatura NO és necessari ser avaluat del mòdul de seminaris.

La nota s'obté per la mitjana ponderada de cada un dels mòduls,

$$0,60 (\text{teoria}) + 0,25 (\text{problemes}) + 0,15 (\text{seminaris}) = \text{nota final}$$

Aquesta mitjana ponderada només, es podrà fer en el cas que en les avaluacions dels mòduls de teoria i de problemes s'hagi obtingut una nota igual o superior a 4. Si no es compleix aquesta condició, l'assignatura quedarà avaluada amb una qualificació final de com a màxim 4.

Les proves escrites de teoria i de problemes es faran conjuntament en les dates programades ja fixades en el calendari. Les proves escrites dels seminaris tindran lloc al final de cada una de les sessions de seminaris.

Els alumnes que vulguin millorar la seva nota podran presentar-se a l'examen de millora de nota al final del semestre, el qual tindrà lloc en la data programada per l'examen de recuperació. L'alumne que es presenti a millorar la nota renuncia a la nota obtinguda en els parcials efectuats al llarg del curs.

L'examen de recuperació o de millorar la nota, tindrà el mateix format que les proves parcials.

Per superar l'assignatura és necessari obtenir una qualificació final igual o superior a 5.

La revisió de les proves escrites es realitzarà en dia i lloc concertat, seguin la normativa d'avaluació de la Facultat de Biociències.

L'alumnat obtindrà la qualificació de "No Avaluable" quan les activitats d'avaluació realitzades tinguin una ponderació inferior al 67% en la qualificació final

Els alumnes que no puguin assistir a una prova d'avaluació individual per causa justificada i aportin la documentació oficial corresponent al Coordinador de Grau, tindran dret a realitzar la prova en qüestió un altre dia. El Coordinador de Grau vetllarà per la concreció d'aquesta amb el professor de l'assignatura afectada.

Qualsevol aspecte que no estigui contemplat en aquesta guia seguirà la normativa d'avaluació de la Facultat de Biociències.

L'avaluació proposada pot experimentar alguna modificació en funció de les restriccions a la presencialitat que imposin les autoritats sanitàries.

Activitats d'avaluació

Títol	Pes	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Avaluació de la participació als seminaris i del resum lliurat	5%	0	0	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
Avaluació en equip dels problemes	10%	0	0	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
proves escrites de teoria, problemes i seminaris	85%	10	0,4	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7

Bibliografia

-Creighton, T.E., The biophysical chemistry of nucleic acids & proteins, Helvetian Press, eBook | 2011

<https://login.are.uab.cat/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsknv&AN=edsknv.k>

-Sheehan, D., Physical biochemistry : principles and applications 2nd ed. Chichester: John Wilwy & Sons, eBook | 2009

<https://login.are.uab.cat/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsebk&AN=266019&>

- Johann H. Peters;Horst Baumgarten;Johann H. Peters;Horst Baumgarten Monoclonal Antibodies, eBook | 2012

<https://login.are.uab.cat/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsebk&AN=2861880>

- Bartlett, John M. S.;Stirling, David;Bartlett, John M. S.;Stirling, David [PCR Protocols](#) eBook | 2003;

<https://login.are.uab.cat/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsebk&AN=103842&>

-

-Reiner Westermeier; Electrophoresis in Practice : A Guide to Methods and Applications of DNA and Protein Separations eBook | 2016

<https://login.are.uab.cat/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsebk&AN=1202071>

[JoVE: The Journal of Visualized Experiments/JoVE: Science Education Collection.](#)

McDonough, K. P.

-Metzemberg, S., Working with DNA, Ed, Taylord & Francis Group. California, 2007

-Freifelder, D. Técnicas de Bioquímica y Biología Molecular. Editorial Reverté. Barcelona. 1991

-García-Segura, JL Técnicas Instrumentales de Análisis en Bioquímica. Editorial Síntesis. Madrid. 1999

-Plummer, D.T. Introducció a la Bioquímica Pràctica. Publicacions UB. 1999

-Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, A Principios de Análisis Instrumental. 6ª ed. McGraw-Hill. 2008

-Harlow, E., Lane, D, Antibodies: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory. New York. 1988

Direccions de interès relacionades amb diferents tècniques instrumentals:

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>

Programari

Microsoft Word, PowerPoint, Excel.