

Guía docente de la asignatura

**Mecanismos y Metodologías  
de Biología Molecular Aplicada**Fecha última actualización: 29/06/2021  
Fecha de aprobación por la Comisión  
Académica: 22/07/2021**Máster**Máster Universitario en Biología Molecular Aplicada a Empresas  
Biotecnológicas (Bioenterprise)**MÓDULO**

Módulo 1: Docencia Obligatoria

**RAMA**

Ciencias

**CENTRO RESPONSABLE  
DEL TÍTULO**

Escuela Internacional de Posgrado

**Semestre**

Primero

**Créditos**

6

**Tipo**

Obligatorio

**Tipo de  
enseñanza**

Presencial

**PRERREQUISITOS Y/O RECOMENDACIONES**

Se recomienda tener conocimientos básicos de Biología Celular, Biología Molecular.

**BREVE DESCRIPCIÓN DE CONTENIDOS (Según memoria de verificación del Máster)**

- Diferencias funcionales y de relación entre procariotas y eucariotas.
- Integración en células aisladas.
- Señales extracelulares en organismos unicelulares.
- Transducción de señales en organismos pluricelulares.
- Proliferación celular y apoptosis. Proliferación de orgánulos subcelulares.
- Transcripción: Regulación y técnicas de identificación de sitios de iniciación.
- Ensayos funcionales para análisis de promotores. Identificación y análisis de regiones de control.
- Identificación de proteínas de unión a DNA, factores de transcripción reguladores. Ensamblajes de complejos de transcripción.
- Degradación de RNAs.
- Mecanismos y control de los ciclos de iniciación y elongación. Terminación y reciclado de ribosomas. Antibióticos. Chaperonas.
- Proteasomas y otros mecanismos. Control de la degradación de proteínas.



**COMPETENCIAS****COMPETENCIAS BÁSICAS**

- CB6 - Poseer y comprender conocimientos que aporten una base u oportunidad de ser originales en desarrollo y/o aplicación de ideas, a menudo en un contexto de investigación.
- CB7 - Que los estudiantes sepan aplicar los conocimientos adquiridos y su capacidad de resolución de problemas en entornos nuevos o poco conocidos dentro de contextos más amplios (o multidisciplinares) relacionados con su área de estudio.
- CB8 - Que los estudiantes sean capaces de integrar conocimientos y enfrentarse a la complejidad de formular juicios a partir de una información que, siendo incompleta o limitada, incluya reflexiones sobre las responsabilidades sociales y éticas vinculadas a la aplicación de sus conocimientos y juicios.
- CB9 - Que los estudiantes sepan comunicar sus conclusiones y los conocimientos y razones últimas que las sustentan a públicos especializados y no especializados de un modo claro y sin ambigüedades.
- CB10 - Que los estudiantes posean las habilidades de aprendizaje que les permitan continuar estudiando de un modo que habrá de ser en gran medida autodirigido o autónomo.

**COMPETENCIAS GENERALES**

- CG01 - Hablar bien en público.
- CG02 - Asumir responsabilidades en lo que respecta al desarrollo de conocimientos y/o prácticas profesionales y a la revisión del rendimiento estratégico de equipos
- CG03 - Desarrollar capacidades para preparar y gestionar proyectos de Investigación y/o de Desarrollo.

**COMPETENCIAS ESPECÍFICAS**

- CE01 - Adquirir conocimientos altamente especializados, algunos de ellos a la vanguardia en un campo de trabajo o estudio concreto, que sienten las bases de un pensamiento o investigación originales en el campo de la Biología Molecular y su relación con las empresas biotecnológicas.

**RESULTADOS DE APRENDIZAJE (Objetivos)**

- Integrar los conocimientos de Biología Molecular en órganos y sistemas funcionales.
- Conocer los aspectos claves de la regulación de los mecanismos moleculares
- Conocer las influencias de agentes externos sobre el control de los mecanismos moleculares celulares
- Conocer y saber aplicar la mutación y modificación del material genético
- Conocer y saber aplicar los conocimientos sobre recambio de proteínas y su degradación controlada
- Conocer y utilizar adecuadamente técnicas e instrumentación avanzadas de Biología Molecular e ingeniería genética

**PROGRAMA DE CONTENIDOS TEÓRICOS Y PRÁCTICOS**

## TEÓRICO

### 1. Tema 1.- Técnicas avanzadas de manipulación de ácidos nucleicos para generar sondas y ADN recombinante.

- Métodos de purificación, amplificación y clonación de ácidos nucleicos.
- Métodos de alto rendimiento de purificación de ácidos nucleicos, Polimerasas especializadas para la amplificación mediante PCR de fragmentos de DNA.
- Nuevos vectores y técnicas de clonación: RestrictionCloning, Golden GateCloning y Sequence and Ligation Independent Cloning (SLIC).

### 2. Tema 2: Métodos de cuantificación de la expresión génica mediante PCR a tiempo real.

- Fundamento y optimización.
- Selección del compuesto fluorescente: compuestos de unión al DNA y sondas fluorescentes.
- Diseño experimental: singleplex o multiplex.
- Selección de fluoróforos y quenchers.
- Diseño y optimización de reacciones con SYBR Green y sondas TaqMan.
- Normalización y Validación de resultados mediante el uso de genes housekeeper, normas MIQE (Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments).
- Análisis de datos. Cuantificación absoluta.
- Cuantificación relativa: normalización por unidad de masa o respecto a un gen de referencia (métodos  $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ ,  $\Delta Ct$  y Pfaffl)

### 3. Tema 3.- Transcripción y Regulación.

- Técnicas de identificación de sitios de iniciación.
- Análisis de interacciones de proteínas con el ADN o con sus efectores.
- Técnicas básicas de Identificación de sitios de iniciación y análisis de regiones de control de la expresión génica.
- Identificación de proteínas de unión a DNA (factores y reguladores de transcripción).
- Ensamblajes de complejos de transcripción.
- Degradación de RNAs.
- Ventajas e inconvenientes de las técnicas de Primer Extensión, RPA, digestión con nucleasa S1 y sistemas basados en genes reporteros.

### 4. Tema 4.- Técnicas de análisis de la vida media de mRNA y proteínas como procesos reguladores de la expresión génica.

- Técnicas de determinación de la vida media del mRNA, uso de genes reporteros y antibióticos específicos.
- Técnicas de marcaje de proteínas en cultivos celulares para el análisis de la vida media de las mismas.

### 5. Tema 5.- Métodos de estudio de cascadas de señalización implicadas en la regulación de la expresión e integración.

- Métodos de análisis de fosforilación y modificación de proteínas mediante el uso de fosfoanticuerpos y espectrometría de masas.
- Uso de inhibidores específicos para la disección de rutas de señalización.
- Genes reporteros como marcadores de rutas de señalización.
- Métodos de análisis de translocación al núcleo como indicadores de señalización.



## 6. Tema 6.- Bioinformática.

- Conocer las principales bases de datos bioinformáticas para búsqueda y análisis transcriptómica y proteómica.

### PRÁCTICO

#### 1. Práctica 1. Técnicas básicas de cultivo de líneas celulares eucariotas.

- Mantenimiento de las células en cultivo.
- Extracción de RNA total de líneas celulares eucariotas.
- Retrotranscripción del mRNA a cDNA.
- Estudio de los niveles de expresión del gen TSC22D3 usando la técnica del PCR a tiempo real (qPCR).
- Determinación de la temperatura óptima de hibridación de los oligonucleótidos, elaboración de una recta estándar para el cálculo de la eficiencia de amplificación.
- Realización de las reacciones de amplificación pertinentes.
- Análisis de los datos y discusión de los resultados obtenidos.

#### 2. Práctica 2. Amplificación a partir de DNA genómico de secuencias promotoras.

- Uso de diferentes estrategias de clonación de los fragmentos amplificados .
- Análisis de los mismos mediante restricción y electroforesis en geles de agarosa convencionales y desnaturalizante en poliacrilamida.

#### 3. Práctica 3. Ensayos funcionales para análisis de promotores mediante genes reporteros.

- Cultivo bacteriano.
- Clonación de DNA recombinante.
- Transformación.
- Selección de clones de interés.
- Determinación de los niveles de expresión promotora mediante la medida de la actividad B galactosidasa.

#### 4. Práctica 4. Estudio de interacción de una proteína con una secuencia promotora.

- Ensayo de EMSA (electrophoretic mobility shift assay).
- Electroforesis en Geles nativos en poliacrilamida.
- Análisis de los resultados.

## BIBLIOGRAFÍA

### BIBLIOGRAFÍA FUNDAMENTAL

- Molecular Biology of the Cell. Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, David Morgan, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter. (6thed) Garland Science. 2014
- Biotechnology. David Clark, Nanette Pazdernik. (2nded) Academic Cell. Elsevier. 2016
- Molecular Biology. David Clark. Academic Cell. Elsevier. 2010
- Principes of Molecular Biology. Burton Tropp. Jones and Bartlett Learning. 2014
- Molecular Cloning. A laboratory manual. Michael Green and Joseph Sambrook. (4thed) Cold Spring Harbor Press. 2012



- <http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/0471142727>
- Protocols in Molecular Biology. John Walker ed. Humana Press

## BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA

Current Protocols in Molecular Biology. Wiley Online Library.

## ENLACES RECOMENDADOS

- NCBI <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- BIOEDIT <http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>
- BLAST <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE=Nucleotides/>
- GENBANK <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>
- ExPASy <http://expasy.org/>
- GENECARDS V3 HUMAN GENES <http://www.genecards.org/>
- PROTEIN DATA BANK <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>
- OMIM ® <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>
- PUBMED <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
- WATCUT [http://watcut.uwaterloo.ca/watcut/watcut/template.php?act=snp\\_new](http://watcut.uwaterloo.ca/watcut/watcut/template.php?act=snp_new)
- NEBCUTTER <http://tools.neb.com/NEBcutter2/>
- VIRTUAL RIBOSOME <http://www.cbs.dtu.dk/services/VirtualRibosome/>
- PRIMER3 <http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>

## METODOLOGÍA DOCENTE

- MD01 Análisis de casos: En los que los estudiantes tendrán que aplicar conocimientos a las situaciones concretas planteadas, hacer apuestas por aquella solución más fundada en situaciones donde la información es incompleta, lo cuál es una práctica corriente entre los profesionales y servirá para elaborar ideas con las que diseñar proyectos de investigación.
- MD02 Trabajo colaborativo: Análisis y crítica de proyectos/artículos de innovación/investigación.
- MD03 Lecciones magistrales y asistencia a conferencias de profesorado invitado o conferencias organizadas por la universidad, etc. en donde el alumno pueda obtener una visión amplia del campo de estudio. Estas lecciones se complementarán con seminarios de discusión de ideas y aplicaciones.
- MD04 Prácticas de laboratorio o planta piloto y visitas a por unidades funcionales de empresas. En ambas se persigue el conocimiento de las diferentes metodologías de trabajo. En algunos casos sustituyen al análisis de casos, al tratarse de casos prácticos a resolver.

## EVALUACIÓN (instrumentos de evaluación, criterios de evaluación y porcentaje sobre la calificación final)

### EVALUACIÓN ORDINARIA

La evaluación en la convocatoria ordinaria se realizará siguiendo los sistemas de evaluación y calificación se describen en: [http://masteres.ugr.es/bioenterprise/pages/info\\_academica/index](http://masteres.ugr.es/bioenterprise/pages/info_academica/index)



### EVALUACIÓN EXTRAORDINARIA

La evaluación en la convocatoria extraordinaria se realizará siguiendo los sistemas de evaluación y calificación se describen en:

[http://masteres.ugr.es/bioenterprise/pages/info\\_academica/index](http://masteres.ugr.es/bioenterprise/pages/info_academica/index)

### EVALUACIÓN ÚNICA FINAL

La evaluación en la la evaluación única final se realizará siguiendo los sistemas de evaluación y calificación se describen en: [http://masteres.ugr.es/bioenterprise/pages/info\\_academica/index](http://masteres.ugr.es/bioenterprise/pages/info_academica/index)

