



UNIVERSIDAD DE CORDOBA

INSTITUTO DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**MÁSTER UNIVERSITARIO EN
INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA
TRASLACIONAL**

CURSO 2024/25

**EXPERIMENTACIÓN EN BIOLOGÍA
CELULAR Y MOLECULAR****Datos de la asignatura**

Denominación: EXPERIMENTACIÓN EN BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR**Código:** 103195**Plan de estudios:** MÁSTER UNIVERSITARIO EN INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA
TRASLACIONAL**Curso:** 1**Créditos ECTS:** 4.0**Horas de trabajo presencial:** 30**Porcentaje de presencialidad:** 30.0%**Horas de trabajo no presencial:** 70**Plataforma virtual:** <https://moodle.uco.es/>**Profesor coordinador**

Nombre: GONZALEZ REYES, JOSE ANTONIO**Departamento:** BIOLOGÍA CELULAR, FISIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA**Ubicación del despacho:** Campus de Rabanales; Edificio Severo Ochoa; Planta 3ª**E-Mail:** bc1gorej@uco.es**Teléfono:** 957218595**Breve descripción de los contenidos**

En esta asignatura se estudian aspectos relacionados con las técnicas básicas de obtención de fracciones subcelulares y con los fundamentos básicos de las principales técnicas utilizadas para el manejo y estudio de proteínas como cromatografía, electroforesis y Western-blot. Así mismo, se ofrecen los fundamentos de la expresión heteróloga de genes clonados y los principales sistemas de expresión en procariontes y eucariotes disponibles comercialmente en la actualidad, los factores que afectan a la expresión génica y las diferentes estrategias que se pueden utilizar para optimizarla. Finalmente, se tratan temas relacionados con técnicas básicas de microscopía electrónica de transmisión y su aplicación cualitativa y cuantitativa a distintos tipos de muestras biológicas.

Conocimientos previos necesarios

Requisitos previos establecidos en el plan de estudios

Ninguno

Recomendaciones

Se recomienda la asistencia regular a todas las actividades presenciales, siendo obligatoria en el caso de las sesiones prácticas.

Programa de la asignatura

1. Contenidos teóricos

- 1.- Conceptos básicos sobre recogida de muestras para fraccionamiento celular. Homogenización de células, tejidos y órganos.
- 2.- Centrifugación y ultracentrifugación. Centrifugación diferencial y en gradientes. Tipos de gradientes.
- 3.- Estimación de pureza de las fracciones subcelulares: métodos espectrofotométricos, inmunológicos y morfométricos.
- 4.- Manipulación y preparación de muestras biológicas para el estudio de proteínas: preparación de homogenados y extractos crudos para la purificación de proteínas nativas y recombinantes a partir de tejidos animales y vegetales, células en cultivo y microorganismos.
- 5.- Técnicas cromatográficas para la separación de biomoléculas: separación de macromoléculas por cromatografía de intercambio iónico, afinidad, filtración en gel, hidrofóbica, de fase reversa, etc.
- 6.- Técnicas electroforéticas para la separación de biomoléculas. Electroforesis de proteínas en geles de acrilamida en condiciones nativas y desnaturalizantes. Isoelectroenfoque e introducción a la electroforesis bidimensional.
- 7.- Técnicas inmunoquímicas. Inmunoblotting de proteínas (Western blot). ELISA. Inmunofluorescencia. Inmunoprecipitación.
- 8.- Expresión de proteínas recombinantes: conceptos de expresión homóloga y heteróloga. Objetivos y problemática de la expresión de genes clonados. Principales sistemas de expresión. Tipos de expresión (proteínas de fusión, de secreción, etc.). Vectores de expresión y vectores lanzaderas. Factores que afectan a la expresión y estrategias para su optimización. Expresión y purificación de proteínas marcadas (6xHis, etc.). Descripción de algunos vectores y sistemas comerciales de expresión (pET, pQE, pMAL, pGEX, etc.). Cuantificación de la expresión.
- 9.- Introducción a la microscopía electrónica de transmisión. Toma de muestras de tejido o células intactas y de fracciones para su análisis ultraestructural. Procesado de las muestras y observación en el microscopio electrónico de transmisión.

2. Contenidos prácticos

Un primer bloque práctico está basado en la aplicación de las técnicas descritas en el programa anterior a muestras de hígado, órgano de fácil obtención y manipulación. En él se aplicarán diversos métodos que nos

conducirán a:

1.- Obtención de fracciones citosólicas solubles y altamente enriquecidas en mitocondrias por homogenización y centrifugación.

2.- Toma de muestras (células y fracciones) y procesado para microscopía electrónica de transmisión. Observación de muestras en el microscopio electrónico.

En un segundo bloque se procederá a la expresión heteróloga en *E. coli* de la nitrorreductasa de la bacteria

Rhodobacter capsulatus fusionada a un marcador de polihistidinas utilizando el siguiente procedimiento:

1.- Hiperexpresión de una proteína recombinante en *E. coli*

2.- Purificación de la proteína recombinante por cromatografía de afinidad.

3.- Comprobación del proceso por electroforesis SDS-PAGE y western blot utilizando anticuerpos específicos

contra la proteína recombinante.

4.- Discusión de la posible utilización de la nitrorreductasa bacteriana en terapias antitumorales.

Bibliografía

Bibliografía básica

Glick BR y Pasternak JJ (2003). *Molecular Biotechnology. Principles and Applications of Recombinant DNA*. 3ª ed.

ASM Press (Herndon, VA, USA).

Goeddel DV, ed. (1991). *Gene Expression Technology. Methods in Enzymology*, Vol. 185. Academic Press Inc. (San

Diego, USA).

Graham J (2001) *Biological Centrifugation (The Basics)*. BIOS Scientific Publishers Ltd (Oxford, UK).

Graham J and Rickwood D. (1997) *Subcellular Fractionation: A Practical Approach (Practical Approach Series)*.

Academic Press (New York, USA).

Hannig G y Makrides SC (1998). *Strategies for optimising heterologous protein expression in Escherichia coli*.

Trends in Biotechnology 16, 54-60.

Hardin C, Edwards J, Riell A, Presutti D, Miller W y Robertson D (2001). *Cloning, Gene Expression and Protein*

Purification: Experimental Procedures and Process Rationale. Oxford University Press (Oxford. UK).

Higgins SJ y Hames BD (1999). *Protein Expression: A Practical Approach*. Oxford University Press (Oxford. UK).

Kuo J. (2007). Electron Microscopy: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology). 2ª Edición. Humana Press Inc (New York, USA).

Makrides SC (1996). Strategies for achieving high-level expression of genes in Escherichia coli. Microbiological Reviews 60, 512-538.

Bibliografía complementaria

Celis JE, Carter N (Editor), Simons K, Small JV, Hunter T, Shotton D. (2005) Cell Biology: A Laboratory Handbook. 2ª Edición. Academic Press (New York, USA).

Green MR y Sambrook J (2012). Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4th ed, Vols 1-3. Cold Spring Harbor Laboratory Press (New York, USA).

Tait RC (1997). An Introduction to Molecular Biology. Horizon Scientific Press (Norwich, UK)

Metodología

Actividades presenciales

Actividad	Total
<i>Actividades de evaluación</i>	1
<i>Actividades de experimentación práctica</i>	23
<i>Actividades de exposición de contenidos elaborados</i>	6
Total horas:	30

Actividades no presenciales

Actividad	Total
<i>Actividades de procesamiento de la información</i>	25
<i>Actividades de resolución de ejercicios y problemas</i>	45
Total horas:	70

Resultados del proceso de aprendizaje

Conocimientos, competencias y habilidades

- 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.
- CB13 Desarrollar las habilidades técnicas que le faculten para el desarrollo de la investigación biomédica.
- CB15 Analizar de forma crítica la información disponible.
- CB16 Comunicar los resultados de la investigación biomédica a la comunidad científica y a la sociedad
- CB3 Dirigir y planificar equipos multidisciplinares de investigación biomédica
- 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 la sustentan a públicos especializados y no especializados de un modo claro y sin ambigüedades
- CE4 Integrar las competencias específicas de los profesionales biomédicos y sanitarios como base para el desarrollo en equipo de la investigación traslacional
- CE5 Desarrollar la capacidad de actualización en los principales avances de la investigación biomédica y sanitaria, así como de sus posibles repercusiones diagnósticas, terapéuticas y preventivas.
- CE6 Realizar diseños experimentales que den respuestas a los problemas planteados en la práctica investigadora
- CE7 Integrar los conocimientos básicos y clínicos adquiridos para enfrentarse a la solución traslacional de problemas de investigación biomédica en el contexto de los centros de investigación sanitaria
- CE8 Evaluar y seleccionar las metodologías y técnicas necesarias para abordar con competencia y eficacia la investigación biomédica
- CT3 Adquirir habilidades de análisis crítico y síntesis, planificación, toma de decisiones, trabajo en equipo, creatividad, capacidad de aplicar los conocimientos teóricos en la práctica, utilización de las fuentes de información y comunicación oral y escrita

Métodos e instrumentos de evaluación

Instrumentos	Porcentaje
Examen	50%
Lista de control de asistencia	25%
Producciones elaboradas por el estudiantado	25%

GUÍA DOCENTE
Se conservan todas las calificaciones durante todo el periodo de matriculación del curso académico
(convocatorias oficiales)

Aclaraciones:

Las "Producciones elaboradas por el estudiantado" se refiere a un informe o memoria que cada alumno/a realizará sobre cada una de las sesiones prácticas de la asignatura.

Objetivos de desarrollo sostenible

Salud y bienestar
Educación de calidad

Otro profesorado

Nombre: REQUEJO AGUILAR, RAQUEL

Departamento: BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

Ubicación del despacho: Campus de Rabanales; Edificio Severo Ochoa; Planta 1ª

E-Mail: bb2reagr@uco.es

Teléfono: 957218317

Nombre: SÁEZ MELERO, LARA PALOMA

Departamento: BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

Ubicación del despacho: Campus de Rabanales; Edificio Severo Ochoa; Planta 1ª

E-Mail: bb2samel@uco.es

Teléfono: 957218318

Nombre: VILLALBA MONTORO, JOSE MANUEL

Departamento: BIOLOGÍA CELULAR, FISIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA

Ubicación del despacho: Campus de Rabanales; Edificio Severo Ochoa; Planta 3ª

E-Mail: bc1vimoj@uco.es

Teléfono: 957218595

Las estrategias metodológicas y el sistema de evaluación contempladas en esta Guía Docente responderán a los principios de igualdad y no discriminación y deberán ser adaptadas de acuerdo a las necesidades presentadas por estudiantes con discapacidad y necesidades educativas especiales en los casos que se requieran.

El estudiantado deberá ser informado de los riesgos y las medidas que les afectan, en especial las que puedan tener consecuencias graves o muy graves (artículo 6 de la Política de Seguridad, Salud y Bienestar; BOUCO 23-02-23).
