



1) NOMBRE DE CADA CURSO O ACTIVIDAD CURRICULAR

A) BIOLOGIA MOLECULAR APLICADA.

B) DATOS BÁSICOS DEL CURSO

Semestre	Horas de teoría por semana	Horas de práctica por semana	Horas trabajo adicional estudiante	Créditos
7 u 8	5	0	5	10

C) OBJETIVOS DEL CURSO

Objetivos generales	Al finalizar el curso el estudiante será capaz de comprender los principios fundamentales de la manipulación y recombinación de moléculas de ADN. Entender que existen toda una serie de herramientas que permiten el corte y pegado de moléculas de ADN de manera específica, así como el papel central que las bacterias cumplen en este proceso. Comprender los principios y las estrategias experimentales necesarias para la producción y purificación de proteínas recombinantes tanto en bacterias como en diversos organismos eucariontes. Reconocer las distintas etapas involucradas en la generación de ratones knock-out, una herramienta esencial en la investigación científica actual.	
Objetivos específicos	Unidades	Objetivo específico
	1. Conceptos generales de la composición y estructura de la molécula de ADN.	Revisar la composición del ADN como una cadena de nucleótidos y su organización en una doble hélice. Enfatizar los tipos de unión entre los diferentes componentes y su contribución a la estabilización de la estructura.
	2. Corte y pegado de moléculas de ADN con enzimas de restricción y ADN ligasas.	Introducir la existencia de un grupo de proteínas bacterianas llamadas enzimas de restricción con las que se puede cortar el ADN de manera específica. Estas enzimas y la ADN ligasa van a permitir la recombinación de dos moléculas de ADN distintas, independientemente de su origen.
	3. Plásmidos bacterianos como vehículos para recombinar y amplificar fragmentos de ADN.	Reconocer que para manipular moléculas de ADN es necesario introducir las en plásmidos, los cuales son moléculas de ADN circular extracromosómicas bacterianas.
	4. Síntesis y modificación de ADN <i>in vitro</i> con la reacción de la polimerasa en cadena (PCR).	Identificar los principios y numerosas aplicaciones de la reacción en cadena de la polimerasa, una de las técnicas más comunes para amplificar, modificar y analizar moléculas de ADN.
	5. Expresión de proteínas recombinantes en bacterias.	Introducir el uso de promotores regulables para la producción controlada de proteínas en bacterias, así como de estrategias para la producción de proteínas tóxicas. Conocer la gran variedad de cepas bacterianas modificadas con el fin de producir proteínas.
	6. Purificación de proteínas recombinantes producidas en bacterias.	Introducir las estrategias más comúnmente utilizadas para separar la proteína de interés de todo un extracto bacteriano tanto en condiciones nativas como desnaturalizantes.
	7. Producción de proteínas recombinantes en células eucariontes.	Comprender las ventajas de producir proteínas recombinantes en células eucariontes. Familiarizarse con los modelos biológicos más utilizados y conocer la diversidad de estudios que pueden realizarse.
8. Generación de ratones knock-out: manipulación de ADN genómico y células madre	Revisar los conceptos y metodologías utilizados en la generación de ratones knock-out. En estos ratones se inactiva un gen en el organismo completo o sólo en tejidos específicos.	

D) CONTENIDOS Y MÉTODOS POR UNIDADES Y TEMAS

5h/semana, 16 semanas: 80 h/semestre



Unidad 1. Generalidades de la composición de la molécula de ADN.		10 h
Tema 1.1 El ADN se encuentra constituido por cuatro tipos diferentes de nucleótidos.		2 h
Tema 1.2 La polaridad 5' - 3' de la molécula de ADN es crítica para su función.		2 h
Tema 1.3 La molécula de ADN es una doble hélice.		2 h
Tema 1.4 El apareamiento Watson-Crick de las bases determinan la función del ADN.		1 h
Tema 1.5 Semejanzas y diferencias entre el ADN de procariontes y el de eucariontes.		3 h
Lecturas y otros recursos	Lecturas complementarias de libros especializados de biología moderna para reforzar e integrar conceptos.	
Métodos de enseñanza	Exposición detallada frente al pizarrón de cada uno de los temas haciendo énfasis del significado de cada uno de los conceptos nuevos	
Actividades de aprendizaje	Lecturas complementarias, posteriores a cada tema, para concretar conceptos y reforzar conocimientos.	

Unidad 2. Corte y pegado de moléculas de ADN con enzimas de restricción y ADN ligasas.		10 h
Tema 2.1 Origen, nomenclatura y función de las enzimas de restricción.		2 h
Tema 2.2 Compatibilidad de extremos pegajosos generados por enzimas diferentes		2 h
Tema 2.3 Mapa de restricción de una molécula de ADN.		2 h
Tema 2.4 Análisis de mezclas de moléculas de ADN en geles de agarosa.		2 h
Tema 2.5 Propiedades generales de las enzimas ADN ligasas.		2 h
Lecturas y otros recursos	Lecturas complementarias de libros especializados de biología moderna para reforzar e integrar conceptos.	
Métodos de enseñanza	Exposición detallada frente al pizarrón de cada uno de los temas haciendo énfasis del significado de cada uno de los conceptos nuevos	
Actividades de aprendizaje	Lecturas complementarias, posteriores a cada tema, para concretar conceptos y reforzar conocimientos.	

Unidad 3. Plásmidos bacterianos como vehículos para recombinar y amplificar fragmentos de ADN.		10 h
Tema 3.1 Componentes generales de los plásmidos bacterianos.		3 h
Tema 3.2 Plásmidos empleados para manipular y amplificar ADN.		1 h
Tema 3.3 Plásmidos utilizados para producir proteínas en bacterias.		2 h
Tema 3.4 Plásmidos empleados para producir proteínas en células de mamíferos.		2 h
Tema 3.5 Selección de los eventos de ligación exitosos entre dos moléculas de ADN.		2 h
Lecturas y otros recursos	Lecturas complementarias de libros especializados de biología moderna para reforzar e integrar conceptos.	
Métodos de enseñanza	Exposición detallada frente al pizarrón de cada uno de los temas haciendo énfasis del significado de cada uno de los conceptos nuevos. Experimentos demostrativos de los principios relacionados con esta unidad	
Actividades de aprendizaje	Lecturas complementarias, posteriores a cada tema, para concretar conceptos y reforzar conocimientos.	

Unidad 4. Síntesis y modificación de ADN <i>in vitro</i> con la reacción de la polimerasa en cadena (PCR).		10 h
Tema 4.1 Etapas generales de la reacción de la polimerasa en cadena.		2 h
Tema 4.2 Diseño de los oligonucleótidos cebadores necesarios para la PCR		2 h
Tema 4.3 Propiedades especiales de las ADN polimerasas empleadas en la reacción de PCR.		2 h
Tema 4.4 Introducción de mutaciones puntuales en el ADN por la reacción de PCR		2 h
Tema 4.5 Introducción de numerosas mutaciones en el ADN por la reacción de PCR		2 h
Lecturas y otros recursos	Lecturas complementarias de libros especializados de biología moderna para reforzar e integrar conceptos.	
Métodos de enseñanza	Exposición detallada frente al pizarrón de cada uno de los temas haciendo énfasis del significado de cada uno de los conceptos nuevos. Experimentos demostrativos de los principios relacionados con esta unidad	
Actividades de aprendizaje	Lecturas complementarias, posteriores a cada tema, para concretar conceptos y reforzar conocimientos.	



Unidad 5. Expresión de proteínas recombinantes en bacterias..		10 h
Tema 5.1 Expresión de la proteína de interés nativa o unida a un péptido pequeño u otra proteína.		2 h
Tema 5.2 Regulación de la síntesis de la proteína a través de promotores inducibles.		3 h
Tema 5.3 Expresión simultánea de varias proteínas para el estudio de complejos proteicos.		3 h
Tema 5.4 Análisis de las diversas cepas bacterianas existentes para la producción de proteínas.		2 h
Lecturas y otros recursos	Lecturas complementarias de libros especializados de biología moderna para reforzar e integrar conceptos.	
Métodos de enseñanza	Exposición detallada frente al pizarrón de cada uno de los temas haciendo énfasis del significado de cada uno de los conceptos nuevos	
Actividades de aprendizaje	Lecturas complementarias, posteriores a cada tema, para concretar conceptos y reforzar conocimientos.	

Unidad 6. Purificación de proteínas recombinantes producidas en bacterias.		8 h
Tema 6.1 Primera prueba: ensayo de solubilidad para la proteína recombinante.		2 h
Tema 6.2 Purificación de proteínas recombinantes con ayuda de la proteína GST		3 h
Tema 6.3 Purificación de proteínas recombinantes con ayuda de una "cola" de histidinas		2 h
Tema 6.4 Purificación de proteínas recombinantes en condiciones desnaturizantes.		1 h
Lecturas y otros recursos	Lecturas complementarias de libros especializados de biología moderna para reforzar e integrar conceptos.	
Métodos de enseñanza	Exposición detallada frente al pizarrón de cada uno de los temas haciendo énfasis del significado de cada uno de los conceptos nuevos	
Actividades de aprendizaje	Lecturas complementarias, posteriores a cada tema, para concretar conceptos y reforzar conocimientos.	

Unidad 7. Producción de proteínas recombinantes en células eucariontes.		10 h
Tema 7.1 Diversas modificaciones postraduccionales ocurren sólo en células eucariontes.		1 h
Tema 7.2 Empleo de la levadura para la producción de proteínas recombinantes.		1 h
Tema 7.3 Utilización de células de insecto para la expresión de proteínas desde baculovirus.		1 h
Tema 7.4 Producción de proteínas recombinantes en células de humano HEK-293 y HeLa S3.		2 h
Tema 7.5 Sobreexpresión de proteínas fusionadas a las proteínas fluorescentes.		2 h
Tema 7.6 Sobreexpresión de proteínas fusionadas a péptidos pequeños (Ha, flag, etc).		2 h
Tema 7.8 Inmunoprecipitación y western-blot para estudiar la unión entre proteínas sobreexpresadas.		1 h
Lecturas y otros recursos	Lecturas complementarias de libros especializados de biología moderna para reforzar e integrar conceptos.	
Métodos de enseñanza	Exposición detallada frente al pizarrón de cada uno de los temas haciendo énfasis del significado de cada uno de los conceptos nuevos. Experimentos demostrativos de los principios relacionados con esta unidad	
Actividades de aprendizaje	Lecturas complementarias, posteriores a cada tema, para concretar conceptos y reforzar conocimientos.	

Unidad 8. Generación de ratones knock-out: manipulación de ADN genómico y células madre.		12 h
Tema 8.1 Importancia de los ratones knock-out en la ciencia: ko constitutivos vs ko condicionales.		2 h
Tema 8.2 Diseño de la construcción molecular con ADN genómico.		2 h
Tema 8.4 Linerización y electroporación de la construcción molecular en células madre de ratón.		2 h
Tema 8.5 Identificación de los raros eventos de recombinación homóloga.		2 h
Tema 8.6 Inyección de células madre en un blastocisto en desarrollo para originar ratones quimeras.		2 h
Tema 8.7 Ratones transgénicos expresando la recombinasa cre para el sistema condicional loxP.		2 h
Lecturas y otros recursos	Lecturas complementarias de libros especializados de biología moderna para reforzar e integrar conceptos.	
Métodos de enseñanza	Exposición detallada frente al pizarrón de cada uno de los temas haciendo énfasis del significado físico de cada uno de los conceptos nuevos. Experimentos demostrativos de los principios relacionados con esta unidad	
Actividades de aprendizaje	Lecturas complementarias, posteriores a cada tema, para concretar conceptos y reforzar conocimientos.	



E) ESTRATEGIAS DE ENSEÑANZA Y APRENDIZAJE

- Exposición del maestro con apoyo de recursos visuales y audiovisuales
- Tareas previas y posteriores a cada tema
- Análisis de textos científicos y tecnológicos
- Evaluación de conceptos formales en exámenes parciales
- Evaluación de la capacidad de síntesis e integración del conocimiento mediante exámenes parciales

F) EVALUACIÓN Y ACREDITACIÓN

Elaboración y/o presentación	Periodicidad	Abarca	Ponderación
Primer examen parcial	1	Unidades 1 y 2	20%
Segundo examen parcial	1	Unidad 3 y 4	20%
Tercer examen parcial	1	Unidades 5 y 6	20%
Cuarto examen parcial	1	Unidad 7 y 8	20%
Trabajo de Investigación Semestral escrito y presentación en clase	1	Investigación de literatura durante todo el semestre	20%
TOTAL			100%

G) BIBLIOGRAFÍA Y RECURSOS INFORMÁTICOS

Textos básicos

- Lewis, B. Genes IX. Jones and Bartlett Publishers (2008).
- Sambrook, J., y Russell, D.W. Molecular Cloning, a laboratory manual, Volúmenes 1, 2 y 3. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 3ed (2001).

Textos complementarios

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., y Walter, P. Molecular Biology of the Cell. Garland Science, Taylor & Francis Group, 5ed (2008).