



1) NOMBRE DE CADA CURSO O ACTIVIDAD CURRICULAR

A) LABORATORIO DE BIOFÍSICA.

B) DATOS BÁSICOS DEL CURSO

Semestre	Horas de teoría por semana	Horas de práctica por semana	Horas trabajo adicional estudiante	Créditos
6	5	0	5	10

C) OBJETIVOS DEL CURSO

Objetivos generales	Al finalizar el curso el estudiante será capaz integrar los conocimientos de técnicas experimentales aprendidos en los cursos previos para aplicarlos en la resolución de problemas de interés en el campo de la biofísica molecular. Describir y comprender algunos de los avances más recientes en el campo de la biofísica experimental. Relacionar el conocimiento experimental y teórico aprendido en los cursos de licenciatura con las técnicas modernas para aislar y caracterizar biomoléculas. Utilizar diferentes técnicas experimentales en aplicaciones avanzadas que le permitan generar conocimiento molecular para resolver problemas de importancia biofísica.	
Objetivos específicos	Unidades	Objetivo específico
	1. Introducción, amplificación y aislamiento de plásmidos en bacterias.	El alumno entenderá los componentes básicos de los plásmidos bacterianos así como el papel central que de éstos en las técnicas actuales de DNA recombinante.
	2. Análisis de ADN con enzimas de restricción. Separación de los fragmentos en geles de agarosa y documentación de resultados.	El alumno se familiarizará con el uso de las enzimas de restricción como una herramienta para la caracterización y manipulación de moléculas de ADN.
	3. Amplificación de ADN con la técnica de PCR o reacción en cadena de la polimerasa.	El alumno entenderá las bases de la reacción de PCR y aprenderá a programar un termociclador.
	4. Propiedades espectroscópicas de las biomoléculas.	Que el alumno conozca las propiedades espectroscópicas (absorbencia y fluorescencia) de las biomoléculas.
	5. Propiedades espectroscópicas de las proteínas.	Que el alumno conozca las propiedades espectroscópicas de las proteínas y su utilidad en el estudio de la estructura y función de las mismas.
	6. Cinética enzimática.	El alumno será capaz de implementar un sistema experimental para la determinación de los parámetros cinéticos. V_{max} y K_m de un enzima.
	7. Regulación alostérica, activación e inhibición enzimática.	El alumno comprenderá las diferentes formas de regulación de la actividad enzimática en el metabolismo celular.
8. Diseño, construcción y alineamiento de un microscopio óptico compuesto.	Que el estudiante conozca los principios y correcta alineación del microscopio óptico.	



	9. Preparación de una muestra de microtúbulos estables, y su observación con el microscopio construido en 9 (1) utilizando	Que el estudiante conozca los principios y ventajas del procesamiento digital de imágenes.
	10. Diseño, construcción y alineamiento de un sistema de pinzas ópticas para la manipulación de partículas	Que el estudiante conozca los principios y aplicaciones de la técnica de pinzas ópticas.

D) CONTENIDOS Y MÉTODOS POR UNIDADES Y TEMAS

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

Unidad 1. Introducción, amplificación y aislamiento de plásmidos en bacterias.		5 h
Tema 1.1 Definición y estructura general de un plásmido.		1 h
Tema 1.2 Transformación: Introducción de un plásmido a bacterias.		2 h
Tema 1.3 Aislamiento del ADN mediante el método de lisis alcalina.		2 h
Lecturas y otros recursos	Libros de texto y Artículos de divulgación	
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	
Actividades de aprendizaje	Resolución de problemas tanto por parte del alumno como del maestro	

Unidad 2. Análisis de ADN con enzimas de restricción. Separación de los fragmentos en geles de agarosa y documentación de resultados.		5 h
Tema 2.1 Definición y nomenclatura de las enzimas de restricción.		1 h
Tema 2.2 Construcción de un mapa de restricción de una secuencia de ADN.		1 h
Tema 2.3 Digestión de un plásmido con una enzima de restricción.		0.5 h
Tema 2.4 Preparación de un gel de agarosa.		1 h
Tema 2.5 Separación de los productos de la digestión en el gel.		1 h
Tema 2.6 Fotodocumentación de los resultados en un transiluminador con luz UV.		0.5 h
Lecturas y otros recursos	Libros de texto y Artículos de divulgación	
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 físicos relacionados con esta unidad	
Actividades de aprendizaje	Resolución de problemas tanto por parte del alumno como del maestro	

Unidad 3. Amplificación de ADN con la técnica de PCR o reacción en cadena de la polimerasa.		5 h
Tema 3.1 Discusión de los principios teóricos y usos de la reacción de PCR.		1 h
Tema 3.2 Programación de un termociclador.		0.5 h
Tema 3.3 Realización de la reacción de PCR.		1.5 h
Tema 3.4 Análisis de los productos de la reacción de PCR en geles de agarosa.		1.5 h
Tema 3.5 Documentación de los resultados en un transiluminador con luz UV.		0.5 h
Lecturas y otros recursos	Libros de texto y Artículos de divulgación	
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 físicos relacionados con esta unidad	
Actividades de aprendizaje	Resolución de problemas tanto por parte del alumno como del maestro	



Unidad 4 Propiedades espectroscópicas de las biomoléculas.		10 h
Tema 4.1	Obtención de los espectros de absorbencia y fluorescencia de varias moléculas orgánicas y reconocimiento que ambos (absorbencia y fluorescencia) son fenómenos físico-químicos ampliamente distribuidos en la naturaleza.	2.5 h
Tema 4.2	Obtención de los espectros de absorbencia de los aminoácidos tirosina, fenilalanina y triptófano, y de los cofactores NAD, NADH, NADP, NADPH y FAD.	2.5 h
Tema 4.3	Obtención de los espectros de fluorescencia de los aminoácidos tirosina, fenilalanina y triptófano, y del FAD.	2.5 h
Tema 4.4	Determinación del efecto del cambio de la polaridad del medio en la intensidad de la fluorescencia.	2.5 h
Lecturas y otros recursos	Libros de texto y Artículos de divulgación	
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	
Actividades de aprendizaje	Resolución de problemas tanto por parte del alumno como del maestro	

Unidad 5. Propiedades espectroscópicas de las proteínas.		10 h
Tema 5.1	Determinación de las propiedades espectroscópicas (absorbencia y fluorescencia) de la glucosa oxidasa (GOx) y diferenciación de la contribución de los aminoácidos aromáticos y del grupo prostético FAD en los mismos.	2 h
Tema 5.2	Determinación de la concentración molar (M) de la GOx utilizando la ecuación de Lambert-Beer.	1 h
Tema 5.3	Determinación del número de residuos de triptófano por titulación de la fluorescencia con NBS.	1 h
Tema 5.4	Determinación del grado de exposición de los residuos de triptófano por titulación de la fluorescencia con acrilamida.	2 h
Tema 5.5	Diferenciación de los espectros de fluorescencia de la GOx en su forma nativa (activa) y en su forma desnaturalizada (inactivada por altas temperaturas).	1 h
Tema 5.6	Relación del espectro de dicroísmo circular de la GOx (cambio en estructura secundaria) con su estado nativo (activa) y en su estado desnaturalizado (inactivada por la incubación a altas temperaturas).	2 h
Tema 5.7	Determinación de la cinética de inactivación de la GOx por la incubación a altas temperaturas y su relación con los datos obtenidos en los temas 5 y 6.	1 h
Lecturas y otros recursos	Libros de texto y Artículos de divulgación	
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	
Actividades de aprendizaje	Resolución de problemas tanto por parte del alumno como del maestro	

Unidad 6. Cinética enzimática.		10 h
Tema 6.1	Ensayo de la cinética enzimática de la GOx saturando la enzima con el sustrato (glucosa). Determinación de las velocidades de reacción utilizando un método colorimétrico.	4 h
Tema 6.2	Análisis por computadora de los datos obtenidos en 6.1 para la obtención de Vmax y Km por regresión no-lineal utilizando el programa Microcal Origin 6.0® y por método gráfico.	2 h
Tema 6.3	Determinación del efecto del pH y temperatura en la velocidad de la reacción de la GOx.	4 h
Lecturas y otros recursos	Libros de texto y Artículos de divulgación	
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 físicos relacionados con esta unidad	
Actividades de aprendizaje	Resolución de problemas tanto por parte del alumno como del maestro	



Unidad 7. Regulación alostérica, activación e inhibición enzimática.		5 h
Tema 7.1	Ensayo de la cinética enzimática de la enzima piruvato cinasa de hígado de rata en ausencia y presencia de su regulador alostérico fructosa 1,6-bifosfato.	2 h
Tema 7.2	Ensayo de la inhibición de la piruvato cinasa por oxalato y determinación del tipo de inhibición.	2 h
Tema 7.3	Ensayo de la activación de la piruvato cinasa por potasio.	1 h
Lecturas y otros recursos	Libros de texto y Artículos de divulgación	
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 físicos relacionados con esta unidad	
Actividades de aprendizaje	Resolución de problemas tanto por parte del alumno como del maestro	

Unidad 8 Diseño, construcción y alineamiento de un microscopio óptico compuesto.		5 h
Tema 8.1	Se construirá un microscopio compuesto con poder de aumento ~500X a partir de componentes ópticos discretos, tales como lentes y espejos. El objetivo a utilizar (100X, apertura numérica = 1.4) será de nivel estudiantil (costo aproximado: 3000 pesos). Como fuente de luz se utilizará un diodo emisor de luz (LED), el cual requiere un circuito electrónico simple para su funcionamiento, mismo que los estudiantes construirán. Finalmente, las imágenes producidas por el microscopio serán registradas por una cámara de CCD conectada directamente a una computadora para subsecuente análisis digital.	5 h
Lecturas y otros recursos	Libros de texto y Artículos de divulgación	
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	
Actividades de aprendizaje	Resolución de problemas tanto por parte del alumno como del maestro	

Unidad 9. Preparación de una muestra de microtúbulos estables, y su observación con el microscopio construido en (8) utilizando procesamiento digital de imágenes.		10 h
Tema 9.1	Se pondrá en uso el microscopio óptico construido en (8), con un experimento cuyo fin será lograr imágenes de microtúbulos (MTs). Las imágenes de MTs individuales se lograrán con el uso extenso de procesamiento digital de imágenes por computadora, utilizando el programa (disponible sin costo) <i>ImageJ</i> [1].	10 h
Lecturas y otros recursos	Libros de texto y Artículos de divulgación	
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	
Actividades de aprendizaje	Resolución de problemas tanto por parte del alumno como del maestro	

Unidad 10. Diseño, construcción y alineamiento de un sistema de pinzas ópticas para la manipulación de partículas micrométricas.		15 h
Tema 10.1	Se construirá un sistema de pinzas ópticas utilizando como base el microscopio construido en (8). En este experimento, se alineará la óptica necesaria para acoplar un haz de láser de mediana potencia dentro del microscopio, de forma tal que se logren atrapar y manipular partículas nano- o micrométricas (o, inclusive, bacterias y células) en soluciones acuosas [2].	15 h
Lecturas y otros recursos	Libros de texto y Artículos de divulgación	
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 físicos relacionados con esta unidad	
Actividades de aprendizaje	Resolución de problemas tanto por parte del alumno como del maestro	



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 a 3	20%
Segundo examen parcial	1	Unidad 4 y 5	20%
Tercer examen parcial	1	Unidades 6 y 7	20%
Cuarto examen parcial	1	Unidad 8 a 10	20%
Examen ordinario	1	Unidades 1 a 10	20%
TOTAL			100%

G) BIBLIOGRAFÍA Y RECURSOS INFORMÁTICOS

1. Sambrook y Russell. Molecular Cloning. A Laboratory Manual. Volumen 1. 3ra. Edición. USA, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
2. Sambrook y Russell. Molecular Cloning. A Laboratory Manual. Volumen 2. 3ra. Edición. USA, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
3. Sambrook y Russell. Molecular Cloning. A Laboratory Manual. Volumen 3. 3ra. Edición. USA, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
4. Lewin. Genes IX. USA, Jones and Barlett's, 2008.
5. Lakowicz, Joseph R. Principles of Fluorescence Spectroscopy, 3ra Edición. USA. Springer-Verlag. 2006. pp: 923.
6. Brand, Ludwig y Johnson, Michael L. Fluorescence Spectroscopy. Methods in Enzymology, Vol 278. USA. Academic Press. 1997. pp: 627.
7. Segel, Irwin H. Enzyme Kinetics: Behavior and Analysis of Rapid Equilibrium and Steady-State Enzyme Systems. USA. Wiley Classics Library. 1975. pp: 992
8. Braulio Gutiérrez-Medina and Steven M. Block "Visualizing individual microtubules using bright-field microscopy," arXiv:0911.1490v1 [physics.bio-ph].
9. Appleyard, et al., "Optical trapping for undergraduates," Am. J. Phys. (75) 1, 5-14 (2007).