

Guía Docente

DATOS DE IDENTIFICACIÓN

Titulación:	Biología		
Rama de Conocimiento:	Ciencias		
Facultad/Escuela:	Ciencias Experimentales		
Asignatura:	Técnicas Instrumentales Básicas		
Tipo:	Obligatoria	Créditos ECTS:	6
Curso:	2	Código:	2024
Periodo docente:	Tercer semestre		
Materia:	Técnicas Instrumentales		
Módulo:	Métodos Experimentales en Biología		
Tipo de enseñanza:	Presencial		
Idioma:	Castellano		
Total de horas de dedicación del alumno:	150		

Equipo Docente	Correo Electrónico
Maite Iglesias Badiola	m.iglesias@ufv.es
Elvira Herrero de Laorden	e.herrero@ufv.es
Raquel Francisco Álvarez	r.francisco@ufv.es

DESCRIPCIÓN DE LA ASIGNATURA

Esta asignatura se centra en el estudio de técnicas instrumentales que, por su carácter fundamental son herramientas imprescindibles para el biotecnólogo. El programa consta de tres bloques. En el primer bloque se estudian los fundamentos y aplicaciones de técnicas encaminadas al aislamiento y caracterización de biopolímeros, la cromatografía, la electroforesis y la centrifugación. Con el segundo se cubren técnicas básicas para la detección y cuantificación de los compuesto biológicos, radioisótopos, absorción ultravioleta-visible y

emisión de fluorescencia. El tercer bloque cubre unas prácticas en el laboratorio de aplicación experimental de las técnicas estudiadas en los bloques 1 y 2.

La Biotecnología es un área de la ciencia con gran impacto en la vida cotidiana y su desarrollo está posibilitando grandes avances en muchas áreas como la Biomedicina, ciencia forense, mejora animal, productos alimentarios, desarrollo de organismos modificados genéticamente de aplicación en distintos ámbitos, etc. Como sucede en todas las áreas científicas, los avances del conocimiento van ligados al desarrollo tecnológico y el ámbito de la biotecnología es un claro reflejo de ello. Aunque los métodos propios de la biotecnología son de muy diversa índole, complejidad y especificidad el conocimiento de ciertas técnicas instrumentales básicas es esencial para el estudiante de biotecnología, además de por su gran aplicación como herramientas para la investigación científica, por ser la base teórico-práctica de otras tecnologías más avanzadas.

Esta asignatura consta de tres bloques. En el primer bloque se estudian los fundamentos físico-químicos y aplicaciones de técnicas encaminadas al aislamiento y caracterización de biopolímeros, la cromatografía, la electroforesis y la centrifugación. Con el segundo se cubren técnicas de obligada consideración para la detección y cuantificación de los compuesto biológicos, empleo de isótopos radiactivos, absorción ultravioleta-visible y emisión de fluorescencia. El tercer bloque cubre unas prácticas en el laboratorio en las que se adquirirá, además del conocimiento de los equipo utilizados para el desarrollo de las técnicas estudiadas, la capacidad de análisis de resultados y obtención de conclusiones derivadas del trabajo experimental

El conocimiento de los fundamentos de las técnicas de una forma individual debe completarse necesariamente con la comprensión de la idoneidad de las mismas para una propuesta biológica dada. De ahí la necesidad de utilizar los conocimientos adquiridos en otras asignaturas como Biología Celular, Bioquímica o Genética para poder desarrollar con éxito las propuestas experimentales planteadas. Este ejercicio obliga al alumno a relacionar contenidos y pensar y trabajar de una forma integrada.

Que el alumno adquiera la capacidad de plantear y desarrollar en el laboratorio propuestas experimentales para el estudio de las biomoléculas y compuestos biológicos utilizando una única técnica o una combinación de las técnicas aprendidas será el reto de este programa. El alumno descubrirá de qué manera las posibilidades metodológicas son herramientas fundamentales y determinan el avance del conocimiento científico. A lo largo de la asignatura se trabaja la competencia de analizar, interpretar y obtener conclusiones de experimentos basadas en las evidencias y entendiendo las limitaciones del método científico como método de investigación aplicado.

OBJETIVO

El objetivo general de esta asignatura es que el alumno conociendo el fundamento físico-químico de las técnicas instrumentales más comúnmente utilizadas en un laboratorio Biotecnológico adquiera la capacidad y destreza para plantear y adecuar la utilización de las técnicas estudiadas a la separación, purificación y detección de biomoléculas y partículas biológicas. El alumno aprenderá a integrar conocimientos de las áreas de la biología, bioquímica, genética, microbiología.... para, en base a una profunda comprensión del sistema biológico objeto de estudio, plantear y desarrollar una propuesta experimental a través de la cual se de respuesta a la cuestión planteada.

CONOCIMIENTOS PREVIOS

Los correspondientes al Grado. Conocimientos básicos de física. Conocimientos básicos de Química y Bioquímica: equilibrio, ácido-base, orbitales atómicos moleculares, estructura de biomoléculas. Conocimientos básicos de Biología.

CONTENIDOS

TEMA 1. Electroforesis. Fundamento físico-químico de la técnica. Electroforesis de proteínas: Tipos. Características. Aplicaciones. Electroforesis de ácidos nucleicos: Tipos. Características. Aplicaciones.

TEMA 2. Técnicas de centrifugación. Fundamento físico-químico de la técnica. Tipos. Características. Aplicaciones.

TEMA 3. Cromatografía. Fundamento físico-químico de la técnica. Tipos. Características. Aplicaciones

TEMA 4. Absorción UV-VIS. Fundamento físico-químico de la técnica. Tipos. Características. Aplicaciones.

TEMA 5. Fluorescencia. Fundamento físico-químico de la técnica. Tipos. Características. Aplicaciones.

TEMA 6. Técnicas Isotópicas. Fundamento físico-químico de la técnica. Tipos. Características. Aplicaciones.

TEMA 7. Prácticas de laboratorio

TEMA 1. Técnicas electroforéticas. Introducción y metodología. Tipos de electroforesis: libre y zonal. Equipo básico. Electroforesis en papel. Aplicaciones. Electroforesis de proteínas. Características y preparación del soporte. Electroforesis no desnaturizante. Electroforesis desnaturizante. Electroforesis bidimensional. Métodos de detección. Cuantificación densitométrica. Electrotransferencia de proteínas (Western blotting). Inmunodetección. Electroforesis de ácidos nucleicos. Características y preparación del soporte. Electroforesis no desnaturizante. Electroforesis desnaturizante. Electroforesis en geles de poliacrilamida. Electroforesis en campo pulsante. Electroforesis capilar. Características y preparación del soporte. Flujo electroendósmano. Aplicaciones.

TEMA 2. Técnicas de Centrifugación. Técnicas de fraccionamiento subcelular. Teoría de la centrifugación. Técnicas de centrifugación. Centrifugación diferencial. Centrifugación en gradiente: zonal e isopícnica. Instrumentación: Centrífugas y rotores. Elección del medio de centrifugación. Formación y análisis de gradientes de densidad. Aplicaciones prácticas. Fraccionamiento subcelular. Determinación del coeficiente de sedimentación. Determinación de complejos. Centrifugación de DNA.

TEMA 3. Cromatografía. Introducción. Clasificación. Cromatografía en papel y capa fina: Descripción de la técnica. Soporte. Aplicación. Desarrollo. Detección. Cromatografía en columna: Descripción de la técnica. Soporte. Aplicación. Desarrollo. Detección. Eficacia de la columna. Ensanchamiento de banda. Variables cinéticas. Optimización. Cromatografía de exclusión molecular: Descripción de la técnica. Soporte. Aplicación. Desarrollo. Detección. Cromatografía de intercambio iónico: Descripción de la técnica. Soporte. Aplicación. Desarrollo. Detección. Cromatografía hidrofóbica: Descripción de la técnica. Soporte. Aplicación. Desarrollo. Detección. Cromatografía de afinidad: Descripción de la técnica. Soporte. Aplicación. Desarrollo. Detección. Cromatografía sobre hidroxiapatito. Cromatografía líquida de alta resolución: HPLC.

TEMA 4. Espectroscopia de absorción ultravioleta-visible. Fundamento teórico. Transiciones electrónicas. Concepto de cromóforo. Ecuación de Lambert-Beer. Espectro de absorción. Equipo. Espectrofotometría de proteínas. Espectrofotometría de ácidos nucleicos. Colorimetrías. Turbidimetrías. Medidas cinéticas. Aplicación a ensayos enzimáticos. Espectroscopia diferencial.

TEMA 5. Espectroscopia de emisión de fluorescencia Fundamento teórico. Espectros de emisión Espectros de excitación. Espectrofluorímetros. Medidas de concentración. El fenómeno de la desactivación (Quenching) de fluorescencia. Procesos de transferencia de energía. Fluoróforos intrínsecos y extrínsecos. Fluorescencia de proteínas. Fluorescencia de ácidos nucleicos. Fundamentos de la citometría de flujo.

TEMA 6. Técnicas isotópicas Introducción: Núcleo atómico. Partículas elementales. Desintegraciones nucleares. Estabilidad del núcleo atómico. Medida de la radiactividad. Contadores. Aplicaciones biológicas de las técnicas isotópicas. Disolución de compuestos radiactivos. Determinación de volúmenes desconocidos. Determinación de concentraciones intracelulares. Ensayos de enzimas y transporte. Trazadores radiactivos. Marcajes. Autorradiografía. Detectores beta de imagen.

TEMA 7. Prácticas de laboratorio: Se realizarán tres prácticas de laboratorio que incluirán las técnicas de: Electroforesis PAGE-SDS; Cromatografía de exclusión Molecular, Espectroscopia de Absorción, Centrifugación en gradiente.

ACTIVIDADES FORMATIVAS

Clases teóricas impartidas por el profesor para el estudio y consolidación de conocimientos necesarios para el entendimiento y correcta realización de las técnicas de laboratorio imprescindibles para un Biotecnólogo. Cada tema teórico vendrá acompañado de las correspondientes sesiones de resolución de supuestos prácticos, de forma individual o en grupos. Se trabajará la metodología de aprendizaje cooperativo. Tutorías individuales y grupales dirigidas por el profesor para la resolución de dudas. Se realizará el desarrollo experimental de trabajo práctico en el laboratorio. Se llevarán a cabo sesiones para la puesta en común y discusión de los resultados obtenidos por equipos.

DISTRIBUCIÓN DE LOS TIEMPOS DE TRABAJO

ACTIVIDAD PRESENCIAL	TRABAJO AUTÓNOMO/ACTIVIDAD NO PRESENCIAL
64 horas	86 horas
Clases presenciales en el aula 35h Trabajo práctico en el laboratorio 13h Presentación de problemas y casos prácticos 5h Tutorías 5h Seminarios de laboratorio 1h Exámenes 5h	Estudio de los contenidos teóricos y resolución de ejercicios 55h Preparación del trabajo práctico en el laboratorio 1h Preparación de casos prácticos 7h Preparación de Tutorías 3h Preparación de exámenes 20h

COMPETENCIAS

Competencias básicas

Que los estudiantes hayan demostrado poseer y comprender conocimientos en un área de estudio que parte de la base de la educación secundaria general, y se suele encontrar a un nivel que, si bien se apoya en libros de texto avanzados, incluye también algunos aspectos que implican conocimientos procedentes de la vanguardia de su campo de estudio

Que los estudiantes sepan aplicar sus conocimientos a su trabajo o vocación de una forma profesional y posean las competencias que suelen demostrarse por medio de la elaboración y defensa de argumentos y la resolución de problemas dentro de su área de estudio

Que los estudiantes tengan la capacidad de reunir e interpretar datos relevantes (normalmente dentro de su área de estudio) para emitir juicios que incluyan una reflexión sobre temas relevantes de índole social, científica o ética

Que los estudiantes puedan transmitir información, ideas, problemas y soluciones a un público tanto especializado como no especializado

Que los estudiantes hayan desarrollado aquellas habilidades de aprendizaje necesarias para emprender estudios posteriores con un alto grado de autonomía

Competencias generales

Adquirir la capacidad de pensamiento analítico, sintético, reflexivo, crítico, teórico y práctico.

Capacidad para la resolución de problemas y la toma de decisiones.

Saber planificar el tiempo de forma eficaz.

Desarrollar la capacidad y el compromiso del propio aprendizaje y desarrollo personal.

Desarrollar hábitos de comunicación oral y escrita.

Comprender los principios y leyes fundamentales de la física, las matemáticas, la química y la biología como base de la estructura mental del biotecnólogo.

Adquirir las habilidades requeridas para el trabajo experimental: diseño, realización, recogida de resultados y obtención de conclusiones, entendiendo las limitaciones de la aproximación experimental.

Competencias específicas

Saber diseñar y ejecutar adecuadamente un protocolo experimental a partir de los conocimientos teóricos de las diversas materias.

Desarrollar hábitos de pensamiento riguroso.

Saber aplicar los conocimientos teóricos adquiridos a la resolución de problemas y casos prácticos relacionados con las distintas materias.

Desarrollar criterios para la resolución de problemas y la toma de decisiones tanto en el ámbito profesional como en el ámbito personal.

Cultivar una actitud de inquietud intelectual y de búsqueda de la verdad en todos los ámbitos de la vida.

RESULTADOS DE APRENDIZAJE

Extrae resultados de los experimentos realizados con honestidad

Comprende el fundamento físicoquímico de las técnicas instrumentales básicas de aplicación en un laboratorio de biotecnología: cromatografía, electroforesis, centrifugación, absorción ultravioleta-visible, fluorescencia y radioisótopos.

Resuelve ejercicios y casos prácticos relacionados con las técnicas instrumentales estudiadas.

Relaciona contenidos de otras asignaturas como Biología Celular Bioquímica y Genética en la aplicación de las técnicas estudiadas para resolver supuestos prácticos para el estudio y caracterización de las biomoléculas y compuestos biológicos.

Argumenta sobre la idoneidad de las posibles técnicas instrumentales para la separación purificación y determinación de biomoléculas y partículas biológicas.

Conoce el manejo de los equipos utilizados en el laboratorio para el desarrollo de las técnicas instrumentales estudiadas.

Formula correctamente una hipótesis científica y proponer los experimentos adecuados para su verificación.

Ejecuta correctamente experimentos de laboratorio de aplicación de las técnicas estudiadas.

Interpreta correctamente y aplicando rigor científico los resultados experimentales obtenidos en el laboratorio.

Obtiene y argumenta correctamente y con rigor científico conclusiones en base a los resultados experimentales obtenidos en el laboratorio.

SISTEMA DE EVALUACIÓN DEL APRENDIZAJE

La participación en las clases prácticas de laboratorio, en los seminarios y en las sesiones de tutorías grupales será "conditio sine qua non" para superar la asignatura

- Participación en clases prácticas de laboratorio 15%.
- Realización de las propuestas de ejercicios y casos prácticos 10%.
- Examen final 75%

Será necesario una calificación mínima de 4,5 en el examen para superar la asignatura.

Al finalizar el primer bloque se realizará un examen teórico parcial que eliminará materia si la calificación es igual o superior a 7.

BIBLIOGRAFÍA Y OTROS RECURSOS

Básica

J.M. García Segura, J.G. Gavilanes, A. Martínez del Pozo, F. Montero, M. Oñaderra y F. Vivanco: "Técnicas Instrumentales de Análisis en Bioquímica" Ed. Síntesis (1996).

D. Freifelder: "Physical Biochemistry: Application to Biochemistry and Molecular Biology". Ed. Freeman (1992).

Complementaria

<http://teaching.shu.ac.uk/hwb/chemistry/tutorials/molspec/uvvisab1.htm>

<http://www.aesociety.org/>

<http://bionmr.unl.edu/courses.php>

Christian G.D., Dasgupta P.S., Schug K. "Analytical Chemistry", (2014). 7th Edition. Ed. Wiley;
<https://chemistry.com.pk/books/analytical-chemistry-7e-gary-d-christian/>

T.C. Cooper. "Instrumentos y Técnicas de Bioquímica". Ed. Reverté S. A. (1986).

RF. Boyer. Modern Experimental Biochemistry. San Francisco: The Benjamin/Cummings Publishing Company; 1993.

D.A. Skoog, F.J. Holler y S.R. Crouch. "Principios de Análisis Instrumental". Ed. Cengage Learning (6th ed) (2011).

S.B. Brown. "An Introduction to spectroscopy for Biochemists". Ed. Academic Press. (1980).

Jou, D., Llebot, J.E. y Pérez García, C. "Física para Ciencias de la Vida" McGraw-Hill, Madrid, Capítulo 8 "Radiactividad" (1996).

T.C. Ford y J.M. Graham. "An Introduction to centrifugation". Ed. Bios Scientific publishers. (1991).

J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis. "Molecular cloning. A laboratory manual". Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York (USA). 4th Ed. (2012).

K. Wilson y J. Walker. "Principles and Techniques of Practical Biochemistry" (7th Edition). Ed. Cambridge University Press. (2010).

M.V. Dabrio y col. "Cromatografía y electroforesis en columna" Ed: Springer-Verlag Ibérica, Barcelona (2000).

R.J. Slater. "Radioisotopes in Biology" Ed. Oxford University Press, (2ª ed). (2002).

I. Sierra. "Prácticas de Análisis Instrumental" Madrid: S.L. Libros Dykinson, 1ª edición (2008).