

**Proyecto/Guía docente de la asignatura**

Asignatura	Aplicaciones de la Biología Molecular y PCR cuantitativa		
Materia	Aplicaciones Moleculares en Investigación Biomédica		
Módulo	Módulo II: Investigación Biomédica Básica		
Titulación	Máster en Investigación Biomédica y Terapias Avanzadas		
Plan	725	Código	55409
Periodo de impartición	1º Cuatrimestre	Tipo/Carácter	Obligatoria
Nivel/Ciclo	Máster	Curso	2023-2024
Créditos ECTS	5		
Lengua en que se imparte	Español - Inglés		
Profesor/es responsable/s	Pilar Ciudad Velasco (Fisiología). Profesor Coordinador. pcidad@uva.es Beatriz Durán Alonso (Fisiología). mariabeatriz.duran@uva.es Miguel A. de la Fuente García (Genética). mafuelle@ibgm.uva.es María Simarro Grande (Genética) maria.simarro.grande@uva.es Carmen García Rodríguez mariacarmen.garcia.rodriguez@uva.es Andrés Alonso García andres.alonso.garcia@uva.es Raquel Almansa Mora (Genética) raquel.almansa@uva.es Sendoa Tajada Esteban (Bioquímica) sendoa.tajada@uva.es		
Datos de contacto (E-mail, teléfono...)	Pilar Ciudad Velasco (coordinadora) 983184810 pcidad@uva.es		
Departamento	Bioquímica y Biología Molecular y Fisiología, Biología Celular Dpto. de Biología celular, Genética, Histología y Farmacología Instituto de Biomedicina y Genética Molecular		
Fecha de revisión por el Comité de Título	21 de julio de 2023		



1. Situación / Sentido de la Asignatura

La asignatura está integrada en la Materia 3: Aplicaciones Moleculares en Investigación Biomédica” del Módulo II: Investigación Biomédica Básica. Es una asignatura obligatoria de 5 ECTS que consta de dos partes una donde se estudia las principales Aplicaciones de la Biología Molecular y otra fundamentalmente práctica sobre la PCR cuantitativa. Se imparte durante 3 semanas del primer cuatrimestre en horario de mañana y tarde.

1.1 Contextualización

La Biología Molecular subyace a una gran parte de los avances realizados en la identificación de mecanismos celulares desencadenantes de patologías y el establecimiento de modelos que sirvan para estudiar los procesos involucrados en la aparición y evolución de enfermedades; también constituye la base de multitud de análisis diagnósticos y terapias que, o bien se están evaluando en la actualidad, o ya se hayan implementadas en la clínica. Es por todo ello que no puede concebirse la Investigación Biomédica sin la Biología Molecular como uno de sus pilares. Su gran potencial viene acompañado de una necesidad de comprender bien las “reglas de uso”: no todas las herramientas de la Biología Molecular son apropiadas para todos los fines, no todos los organismos modelo proporcionan la información requerida, dependiendo de la pregunta que se plantee. Es crucial conocer las herramientas que la Biología Molecular nos brinda y saber valorar las ventajas y desventajas de cada opción, de forma que nuestra investigación aporte una información valiosa y robusta que apoye el desarrollo de sistemas de diagnóstico y terapias eficaces en la clínica.

Entre las técnicas básicas de la Biología Molecular está la PCR cuantitativa y su estudio y manejo garantiza la adecuada comprensión e interpretación de los resultados de trabajos y artículos de investigación que se trabajan y manejan en otros cursos del Máster, así como en la realización de Trabajo del Fin de Máster.

1.2 Relación con otras materias

Esta asignatura está íntimamente relacionada con un amplio número de asignaturas del Máster, distribuidas en los bloques II y III. Entre ellas, cabe mencionar las asignaturas Electroforesis, western-blot y Purificación de proteínas (Módulo II); Detección de Mutaciones y Genotipado (Módulo III) y Técnicas de cultivo celular y edición génica con CRISPR/Cas9 (Módulo II).

1.3 Prerrequisitos

Admisión al Máster, conocimientos básicos de biología molecular y buen nivel de inglés hablado y escrito.

Es recomendable que los alumnos que no tengan una buena base de Biología Molecular cursen la asignatura “*Introducción a la Biología Molecular*” (Módulo de nivelación)



2. Competencias

2.1 Generales

RA1.- Analizar los conceptos y realidades propias de la actividad investigadora en el área de la Biomedicina.

RA11.- Enfrentarse de modo crítico a los conocimientos científicos descritos tanto oralmente como en la bibliografía en inglés y español

RA26- Ser capaz de trabajar en equipo en un ambiente multidisciplinar para conseguir objetivos comunes desde perspectivas diferenciadas.

RA23.- Diseñar experimentos en el campo de la investigación biomédica, aplicando las técnicas adecuadas para responder a la pregunta pertinente.

RA24.- Informar, tanto oralmente como por escrito, sobre problemas/proyectos biomédicos.

2.2 Específicas

RA5.- Describir las técnicas punteras de biología molecular en la biomedicina aplicada

RA22.- Identificar las técnicas de biología molecular en la biomedicina aplicada, con especial atención a aquellas técnicas relacionadas con el diagnóstico, seguimiento y terapia de enfermedades humanas.

RA13.- Seguir un protocolo experimental de investigación biomédica de forma autónoma.

RA14.- Interpretar los resultados obtenidos en los experimentos.

3. Objetivos

APLICACIONES DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR

1. Se persigue que los alumnos adquieran conocimientos a nivel teórico-práctico de una serie de técnicas de Biología Molecular de interés tanto en la investigación básica como en la biomedicina aplicada, con especial atención a aquellas técnicas relacionadas con el diagnóstico, seguimiento y terapia de enfermedades humanas.
2. Conocer los fundamentos teóricos, su potencial para el estudio de problemas biológicos y limitaciones de las técnicas estudiadas, con especial énfasis en las técnicas de análisis del transcriptoma, y en las técnicas de manipulación genética en organismos modelo, con un conocimiento crítico de la validez, usos, ventajas y desventajas de cada técnica tratada.
3. Finalmente, el alumno será capaz de valorar, analizar e interpretar los resultados obtenidos con estas técnicas, familiarizándose con su diseño y su aplicación en proyectos concretos. Este aspecto, que entra en el campo de los contenidos transversales, constituirá además un elemento importante en la evaluación del curso.

En resumen, el alumno deberá saber evaluar y decidir la aproximación desde la Biología Molecular que sea más adecuada a la pregunta biomédica que se plantee contestar desde un punto de vista experimental.

PCR CUANTITATIVA

Que el alumno se familiarice con los fundamentos de la PCR a tiempo real, su instrumentación, sus aplicaciones, las distintas modalidades de utilización y aprenda a valorar e interpretar los resultados obtenibles.

En el campo de las destrezas y habilidades, el alumno aprenderá el uso de los equipos, presentándole más de un modelo de termociclador y de sistema de análisis. El alumno aprenderá a planificar, preparar y llevar a cabo una cuantificación utilizando uno de los modelos disponibles.

Finalmente, en el campo de los contenidos transversales, el alumno será capaz de analizar e interpretar los resultados obtenidos y comprobar desde su propia experiencia los aspectos técnicos y conceptuales más complejos de la técnica.

Así mismo se presentarán los fundamentos de otro tipo de PCR, la PCR digital, su instrumentación y sus aplicaciones.

4. Contenidos y/o bloques temáticos

APLICACIONES DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR

Carga de trabajo en créditos ECTS: 3

BLOQUE I: CONCEPTOS Y TÉCNICAS BÁSICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y GENÉTICA

TEMA 1. REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA: DOGMA CENTRAL. REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL Y POST-TRANSCRIPCIONAL.

Introducción

- Dogma de la biología molecular: Flujo de información genética de ADN → ARN → proteína

Regulación transcripcional

- Elementos reguladores de la transcripción: Maquinaria basal de transcripción, Factores de transcripción, Activador (“enhancer”)
- Control de la transcripción: Regulación transcripcional y epigenética

Regulación post-transcripcional

- Estructura y tipos de RNA
- Procesamiento de RNA y enfermedades
- Homeostasis del mRNA: estabilidad y degradación
- Regulación traduccional
- Regulación post-traduccional

TEMA 2. TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR I. ANÁLISIS DEL DNA Y EL RNA. INTERACCIONES DNA/RNA-PROTEÍNA. ENSAYOS FUNCIONALES DE TRANSCRIPCIÓN.

Descripción, aplicación, ventajas, limitaciones y aplicaciones en biomedicina de las siguientes técnicas de biología molecular:

Análisis de RNA, miRNA y precursores

1. Northern blot
2. Reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-PCR)

Análisis y amplificación de DNA

1. Southern blot
2. PCR, uso en diagnóstico y medicina forense

Análisis de interacciones DNA-proteína y RNA-proteína

1. Ensayos de gel de retardo
2. Ensayos de inmunoprecipitación de cromatina y variantes



Análisis de modificaciones del DNA

1. Análisis de metilación (genoma completo / gen individual)

Ensayo funcional de transcripción

1. Genes reportadores *in vitro*
2. Genes reportadores *in vivo*

TEMA 3. TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR II. ANÁLISIS MÚLTIPLE DE LA EXPRESIÓN GÉNICA MEDIANTE SISTEMAS CERRADOS Y ABIERTOS.

Análisis de la expresión génica diferencial

1. Sistemas cerrados: Micromatrices ("microarrays")
2. Sistemas abiertos: SAGE

Técnicas de secuenciación masiva

1. DNA-seq
2. RNA Seq

TEMA 4. GENERACIÓN Y USO DE ANTICUERPOS EN INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA. GENERALIDADES DE ANTICUERPOS. ELECCIÓN DE ANTICUERPOS EN FUNCIÓN DE LAS TÉCNICAS. MANEJO DE ANTICUERPOS EN EL LABORATORIO.

Introducción

- Estructura y función de un anticuerpo.
- Interacción antígeno-anticuerpo.
- Generación de anticuerpos
 1. Generación de anticuerpos policlonales
 2. Generación de anticuerpos monoclonales

Elección de anticuerpos para técnicas de localización o perturbación de biomoléculas

- Técnicas básicas de detección de proteínas
 1. Inmunoblot
 2. Inmunoprecipitación
 3. ELISA
- Factores que afectan a la consecución de resultados con estas técnicas
 1. Grado de fuerza en interacción antígeno-anticuerpo
 2. Especificidad de interacción antígeno-anticuerpo
 3. Alteraciones en el epítipo
 4. Acceso del anticuerpo
 5. Reactivos secundarios para localización de anticuerpo
- Selección de anticuerpos para uso en investigación biomédica

Manejo de anticuerpos en el laboratorio

Convenciones para nomenclatura de anticuerpos en la literatura científica



BLOQUE II: PROTEÓMICA

TEMA 5. TÉCNICAS BÁSICAS PARA EL ESTUDIO DE PROTEÍNAS. ANÁLISIS DE ABUNDANCIA, EXPRESIÓN Y MODIFICACIONES DE PROTEÍNAS.

Análisis de la abundancia, cambios de expresión y modificaciones post-traduccionales de proteínas. Análisis de interacciones moleculares entre proteínas.

- Introducción
- Métodos de separación de proteínas
- Electroforesis bidimensional
- Cromatografía de afinidad
- Extracción y digestión de proteínas
- Espectrometría de masas
 1. El Espectrómetro de masas
 2. Fuentes iónicas:
 - MALDI (Matrix assisted laser desorption ionization)
 - ESI (Electrospray ionization)
 3. Analizadores de masas
 - TOF (Time of flight)
 - QUADRUPOLE
 - ION TRAP
 - FT-ICR (Fourier-transform ion cyclotron resonance)

TEMA 6. TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE INTERACCIÓN DE PROTEÍNAS.

- Protein arrays
- Yeast-two hybrids
- Phage display
- Surface plasmon resonance energy transfer
- FRET

BLOQUE III: TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS Y LA ALTERACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA

TEMA 7. ESTRATEGIAS PARA LA ALTERACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA.

Herramientas y estrategias en genética funcional

1. Ganancia de función
2. Pérdida de función: Silenciamiento génico

Introducción al silenciamiento génico

Oligonucleótidos antisentido: Mecanismo de acción, estrategias de diseño



Morfolinos

Ribozimas

Interferencia de RNA y silenciamiento por RNA

1. Antecedentes y mecanismos de la RNAi y del silenciamiento por RNA
2. Los protagonistas de la RNAi:
 - RNA-dependent RNA-polymerases (RdRP)
 - Dicer: función en la RNAi y otras funciones
 - RNA-induced-silencing-complex (RISC)
3. siRNAs endógenos: ra-siRNAs y microRNAs. Metabolismo y funciones biológicas de los miRNAs
4. Papel biológico y mecanismos de la RNAi
 - Silenciamiento post-transduccional (PTGS) en plantas
 - RNAi en *C. Elegans*
 - RNAi en mamíferos y humanos
5. Introducción de RNAi en células de mamíferos
6. Aplicaciones de la RNAi en biomedicina: Diseño y validación de siRNA
7. Control de la RNAi: Rescate de la función

Aptámeros

TEMA 8. TÉCNICAS PARA INTRODUCIR GENES EN CÉLULAS Y ORGANISMOS. USO DE VECTORES VIRALES Y NO VIRALES. SISTEMAS DE TRANSFECCIÓN.

Vectores virales versus no virales

Vectores no virales

1. Métodos de transfección químicos
 - Fosfato Cálcico
 - Lipofección
 - DEAE Dextrano
2. Métodos de transfección físicos
 - Electroporación
 - Microinyección
 - Biolística
 - Magnetofección

Vectores virales

1. Retrovirus
2. Adenovirus
3. Lentivirus



4. Virus adeno-asociados
5. Herpes Virus

TEMA 9. GENERACIÓN Y USO DE ORGANISMOS TRANSGÉNICOS EN EXPERIMENTACIÓN. ORGANISMOS MODELO.

Consideraciones a la hora de elegir un organismo modelo

Organismos modelo: propiedades, ventajas, desventajas

TEMA 10. GENERACIÓN DE MUTANTES DE PÉRDIDA O GANANCIA DE FUNCIÓN. TÉCNICAS DE MODIFICACIÓN GÉNICA DIRIGIDA

Generación de animales mutantes

1. Ganancia de función: introducción de transgenes en ratón
2. Pérdida de función: ratones knock-out y knock-out condicionales

Nuevos métodos de edición del genoma con nucleasas sitio-dirigidas

1. Nucleasas de dedos de zinc (ZFN)
2. Nucleasas tipo activadores de transcripción (TALEN)
3. Nucleasas de Secuencias Palindrómicas Repetidas Inversas (CRISPR-Cas)

Métodos docentes

- Clases magistrales
- Trabajos en el aula
- Exposición de proyectos
- Preparación y presentación de trabajos en grupos

Plan de trabajo

A. Actividades presenciales:

1. Clases magistrales de exposición de temas. Los estudiantes dispondrán en la página del curso de esquemas de las presentaciones que se utilizan para que los puedan llevar a clase y seguir mejor las explicaciones
2. Trabajos prácticos en clase
3. Sesiones de discusión de trabajos: Habrá dos sesiones en las que todos los alumnos, organizados bien individualmente o bien en grupos pequeños, tendrán que analizar de forma crítica, mediante debates, búsqueda de información adicional, aclarando dudas, una serie de artículos que estarán disponibles en el Moodle. Deberán leerlos, analizarlos y organizar una presentación para el resto de sus compañeros
4. Examen

B. Actividades no presenciales:

5. Preparación de la presentación de trabajos
6. Estudio y trabajo personal, para el que los alumnos contarán con la información que se les da en las clases, bibliografía de consulta propuesta por los profesores y todo el apoyo



que precisen.

Evaluación

- Evaluación continua durante las semanas en las que se imparte la asignatura
- Evaluación de los trabajos prácticos en el aula y de las presentaciones de los artículos (20%)
- Los alumnos realizarán además un trabajo de evaluación que consta de un ejercicio de test y una parte de problemas y temas a desarrollar (80%).

Bibliografía básica

1. Alberts, *et al.* Molecular Biology of the Cell. Garland Publishing 2002.
(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21054/?term=alberts>)
2. Lodish *et al.* Molecular Cell Biology. Freeman and Co. Publ. 2000.
(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?CMD=&DB=books>)
3. BioRom (SEBBM) (<http://www.biorom.uma.es/indices/index.html>)
4. Using antibodies. A laboratory manual. Ed Harlow and David Lane. CSHL Press. 1999
5. Molecular Cloning. A Laboratory Manual. Sambrook, J. and Russel, D. W. 3rd edition, 2001. Cold Spring Harbor laboratory Press.
6. Current Protocols in Molecular Biology.
7. Proteins and proteomics. Richard J. Simpson. 2003. Cold Spring Harbor laboratory Press.
8. Analysis of Proteins and Proteomes by Mass Spectrometry. Mann, M., Hendrickson, C. R. and Pandey, A. Annu. Rev. Biochem. 2001. 70:437–73
9. Proteomics. Zhu, H. Bilgin, M., Snyder, M. Annu. Rev. Biochem. 2003. 72:783–812
10. Arenz C and Schepers U. (2003). RNA interference: from an ancient mechanism to a state of the art therapeutic application?. Naturwissenschaften 90, 345-359.
11. Fischer A, Cavazzana-Calvo M. Gene therapy of inherited diseases. Lancet. 2008 Jun 14;371(9629):2044-7.
12. Fischer A *et al.*,. Gene therapy for primary adaptive immune deficiency J Allergy Clin Immunol. 2011 Jun;127(6):1356-9. Review.
13. The Scientist (June 2, 2003). Special Issue on Model Organisms.
14. A. Rojas-Muñoz, A.B. Miana y J.C. Izpisua-Belmonte (2007) El pez cebra, versatilidad al servicio de la Biomedicina. Investigación y Ciencia, Marzo: 62-69.
15. S.T. Thibault *et al.* (2004) A complementary transposon tool kit for *Drosophila melanogaster* using P and piggyback. Nature Genetics, 36:283-287

Bibliografía complementaria

- J.G. Sutcliffe (2001) Open-System Approaches to Gene Expression in the CNS. J. Neurosci. 21:8306-8309. (<http://www.jneurosci.org/content/21/21/8306.full.pdf+html>)
- S.H. Friend y R.B. Stoughton (2002) Micromatrices de ADN. Investigación y Ciencia, Abril:50-57.
- A. Butte (2002) The use and análisis of microarray data. Nature Reviews. 1:951-960.



- Strachan T, Read AP. 1999. Human Molecular Genetics (2nd ed) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7567/>
- Understanding Gene and Allele Function with Two-Hybrid Methods. Roger Brent, Russell L. Finley Jr Annual Review of Genetics 1997. 31, 663-704.
- Linkage of recognition and replication functions by assembling combinatorial antibody Fab libraries along phage surfaces. Angray S. Kang, Carlos F. Barbas, Kim D. Janda, Stephen J. Benkovic and Richard A. Lerner. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1991. 88, 4363-4366.
- Hannon GJ (2002). RNA interference. Nature 418, 244-250.
- Hutvagner G and Zamore PD (2002). RNAi: Nature abhors a double-strand. Current Opinion in Genetics and Development 12, 225-232.
- Nakahara K and Carthew RW (2004). Expanding roles for miRNAs and siRNAs in cell regulation. Current Opinion in Cell Biology 16,127-133.
- Sontheimer EJ and Carthew RW (2005). Silence from within: endogenous siRNAs and miRNAs. Cell 122,9-12.
- Yang M and Mattes J (2008). Discovery, biology and therapeutic potential of RNA interference, microRNA and antagomirs. Pharmacology and therapeutics 117, 94-104.
- Carthew RW and Sontheimer EJ (2009). Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs. Cell 136, 642-655.
- Malone CD and Hannon GJ.(2009). Small RNAs as guardians of the genome. Cell 136, 656-668.
- Tiera MJ, Shi Q, Winnik FM, Fernandes JC. Polycation-based gene therapy: current knowledge and new perspectives. Curr Gene Ther. 2011 Aug 1;11(4):288-306.
- Kumar P, Woon-Khiong C. Optimization of lentiviral vectors generation for biomedical and clinical research purposes: contemporary trends in technology development and applications. Curr Gene Ther. 2011 Apr;11(2):144-53.
- Lam AP, Dean DA. Progress and prospects: nuclear import of nonviral vectors. Gene Ther. 2010 17(4):439-47.
- Yoo JW et al. Bio-inspired, bioengineered and biomimetic drug delivery carriers. Nat Rev Drug Discov. 2011; 10(7):521-35.
- Kim NV et al. Biogenesis of small RNAs in animals.(2009). Nat Rev Cell Mol Biol 10, 126-139.
- Zhang F, Wen Y, Guo X. CRISPR/Cas9 for genome editing: progress, implications and challenges. Hum Mol Genet. 2014 Sep 15;23(R1):R40-6. doi: 10.1093/hmg/ddu125. Epub 2014 Mar 20. PubMed PMID: 24651067.
- Touzot F, Hacein-Bey-Abina S, Fischer A, Cavazzana M. Gene therapy for inherited immunodeficiency. Expert Opin Biol Ther. 2014 Jun;14(6):789-98.
- Joung JK, Sander JD. TALENs: a widely applicable technology for targeted genome editing. Nat Rev Mol Cell Biol. 2013 Jan;14(1):49-55.



PCR CUANTITATIVA

Carga de trabajo en créditos ECTS: 2

Sesiones teóricas donde se explican los conceptos básicos, sesiones prácticas para diseñar y preparar un experimento y sesión de análisis de datos para interpretar y discutir los resultados obtenidos en la sesión prácticas.

Recursos necesarios

Sesiones teóricas y de análisis, aulas dotadas de sistema de proyección y pizarras.

Sesiones prácticas, laboratorio con el equipamiento (termociclador, cabina de ultravioleta para PCR, micropipetas) y material fungible (reactivos y material de plástico) necesario para realizar los experimentos.

Bibliografía básica

1. PCR Primer, a laboratory manual. (Carl W. Dieffenbach and Gabriela S. Dveksler, eds.) CSHL press (2nd ed.) 2003.
2. Valasek MA, Repa JJ. The power of real-time PCR. Adv. Physiol. Ed. 29: 151-159, 2005
3. Wong ML, Medrano JF. Real-time PCR for mRNA quantitation. Biotechniques. Jul;39(1):75-85. 2005.
4. Bustin SA. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. J Mol Endocrinol 25(2):169-93. 2000.
5. Bustin SA. Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems. J Mol Endocrinol. 29(1):23-39. 2002.
6. Bustin SA, Nolan T. Pitfalls of quantitative real-time reverse-transcription polymerase chain reaction. J Biomol Tech.15(3):155-66. 2004.
7. Huggett J, Dheda K, Bustin S, Zumla A. Real-time RT-PCR normalisation; strategies and considerations. Genes Immun. 6(4):279-84. 2005.
8. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Res. 29(9):2002-2007., 2001
9. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2-DDCt method. Methods 25, 402-408, 2001.
10. VanGuilder HD, et al. Twenty-five years of quantitative PCR for gene expression analysis. BioTechniques 44(5): 619-626. 2008

Bibliografía complementaria

Se especificará durante la presentación del curso y se publicará en la plataforma Moodle días antes del comienzo del segundo semestre

Métodos docentes

Sesiones teóricas donde se explican los conceptos básicos, sesiones prácticas para diseñar y preparar un experimento y sesión de análisis de datos para interpretar y discutir los resultados obtenidos en la sesión prácticas. Se publicarán en la plataforma del Campus Virtual los materiales necesarios para el desarrollo del curso los días previos al comienzo del mismo



Plan de trabajo

La asignatura está organizada en tres actividades claramente diferenciadas:

1. Sesiones teóricas en las que se explican los conceptos básicos, los fundamentos técnicos y los sistemas de análisis de la PCR cuantitativa. Estas sesiones se imparten con un grupo reducido de alumnos que favorece la participación del alumno. En estas sesiones se tratarán los siguientes puntos:

- Introducción a la PCR a tiempo real: consideraciones básicas, instrumentación, química, ventajas respecto a la PCR tradicional.
- Estrategias de cuantificación más comunes y sus fundamentos: el método de cuantificación relativo frente al absoluto.
- Conceptos básicos para el análisis de los resultados: eficiencia de las reacciones, curvas patrones, genes normalizadores. Aplicaciones y limitaciones de la técnica.

Sesión teórica de presentación de otro tipo de PCR, la PCR digital. Consideraciones básicas, instrumentación, química, ventajas respecto a la PCR cuantitativa.

2. Sesiones prácticas en las que tras presentar los distintos instrumentos y hacer que los alumnos se familiaricen con su manejo, cada grupo ha de diseñar, preparar y llevar a cabo un experimento de cuantificación a tiempo real de algún gen que se le asigne. El diseño de los experimentos incluye controles positivos y negativos, calibradores y diluciones seriadas de las muestras para certificar la validez del experimento y poder detectar posibles fallos en su diseño o ejecución. Estas sesiones se llevan a cabo en grupos de 3-5 alumnos.

3. Sesiones de análisis y evaluación, en las que los alumnos han de ser capaces de presentar interpretar y discutir los resultados obtenidos manejando el programa de análisis. Estas sesiones se llevarán a cabo de nuevo en los grupos de 4-8 alumnos.

4. Sesiones no presenciales, los alumnos deberán realizar trabajo autónomo para estudiar y afianzar los conocimientos impartidos y analizar los resultados obtenidos para su posterior discusión.

5. Métodos docentes y principios metodológicos

Ver más arriba en cada parte

**6. Tabla de dedicación del estudiante a la asignatura****Tabla de dedicación del estudiante a Aplicaciones de la Biología Molecular**

ACTIVIDADES PRESENCIALES	HORAS	ACTIVIDADES NO PRESENCIALES	HORAS
Clases teóricas	21	Estudio y trabajo autónomo	25
Presentaciones en grupos y prácticas de aula	5	Preparación de ejercicios en grupos	20
Tutorías	2		
Examen y revisión	2		
Total presencial	30	Total no presencial	45
TOTAL presencial + no presencial			75

ACTIVIDADES PRESENCIALES	HORAS	ACTIVIDADES NO PRESENCIALES	HORAS
Clases teóricas	3	Estudio y trabajo personal	16
Seminarios y Prácticas	16	Discusión, preparación y presentación de trabajo.	7
Sesiones de análisis y revisión de resultados	1	Elaboración y presentación de memorias	7
Total presencial	20	Total no presencial	30
TOTAL presencial + no presencial			50

7. Sistema y características de la evaluación**Sistema de evaluación en Aplicaciones de la Biología Molecular**

INSTRUMENTO/PROCEDIMIENTO	PESO EN LA NOTA FINAL	OBSERVACIONES
Examen teórico-práctico	80%	
Presentación de trabajos, elaboración y exposición y prácticas en el aula	20%	



Sistema de evaluación en PCR cuantitativa

Los alumnos están durante todo el curso acompañados por uno de los profesores responsables, que se encarga de impartir los contenidos teóricos en la primera parte del curso, y que en el resto de las actividades actúa como observador y facilitador de la tarea a realizar por los alumnos. Esto permite al profesor formarse una idea muy precisa del grado de adquisición de conocimientos teóricos, así como de las habilidades prácticas de los alumnos a la hora de manejar las muestras, los aparatos y el programa de análisis.

La evaluación del examen escrito se confronta con el ejercicio de evaluación que supone la realización de un experimento por parte del alumno. Este experimento es además idóneo como ejercicio de autoevaluación ya que el objetivo que se persigue es que sea capaz de evaluar críticamente los resultados obtenidos para detectar fallos metodológicos, de ejecución, de análisis o conceptuales. Puesto que ellos mismos han de ejecutar todo el proceso, obtienen una información muy precisa con respecto al grado de comprensión de la técnica que han alcanzado y por tanto el grado de consecución de los objetivos del curso.

Instrumento/Procedimiento	Peso en la nota fina	Observaciones
Evaluación continua	20%	
Examen final	80%	Preguntas cortas y ejercicio práctico

CRITERIOS DE CALIFICACIÓN

La nota final de la asignatura será la media de las calificaciones obtenidas en los bloques de Aplicaciones de la Biología Molecular y de PCR cuantitativa. Para aprobar la asignatura es necesario obtener al menos 5 puntos sobre 10 en cada una de las partes de la asignatura.

- **Convocatoria ordinaria:**
 - Se aprueba con un 5 sobre 10 en la nota final. A esta nota final contribuye la evaluación continua sólo si en las pruebas de evaluación se supera el 4 sobre 10
- **Convocatoria extraordinaria:**
 - Igual que la ordinaria. El alumno conservará la nota de la evaluación continua de la anterior convocatoria

(*) Se entiende por convocatoria extraordinaria la segunda convocatoria.

Art 35.4 del ROA 35.4. La participación en la convocatoria extraordinaria no quedará sujeta a la asistencia a clase ni a la presencia en pruebas anteriores, salvo en los casos de prácticas externas, laboratorios u otras actividades cuya evaluación no fuera posible sin la previa realización de las mencionadas pruebas.