

**Proyecto/Guía docente de la asignatura**

Asignatura	Detección de mutaciones y Genotipado		
Materia	Técnicas instrumentales		
Módulo	Complementos de Formación		
Titulación	Master en Investigación biomédica y terapias avanzadas		
Plan	725	Código	55417
Periodo de impartición	2º Cuatrimestre (Marzo)	Tipo/Carácter	Optativo
Nivel/Ciclo	Máster	Curso	Postgrado
Créditos ECTS	3		
Lengua en que se imparte	Español		
Profesor/es responsable/s	Dra Mar Infante Sanz (Fisiología) Coordinadora mariamar.infante@uva.es Dr Miguel Ángel de la Fuente García (Genética) mafuelle@uva.es Dra Pilar Ciudad Velasco (Fisiología) pcidad@uva.es Dra María Teresa Alonso Alonso (Bioquímica) talonso@uva.es Dr. Thomas Christian Schimmang (NoUVA, Bioquímica) thomas.schimmang@uva.es Dr. Jonathan Rojo Ruiz (Enfermería) jonathan.rojo@uva.es		
Datos de contacto (E-mail, teléfono...)	mariamar.infante@uva.es		
Departamento	Bioquímica y Biología Molecular y Fisiología. Biología celular, Genética, Histología y Farmacología Instituto de Biomedicina y Genética Molecular (IBGM)		
Fecha de revisión por el Comité de Título	16 de julio de 2024		



1. Situación / Sentido de la Asignatura

La asignatura está integrada en la Materia 5 “Terapia génica” del Módulo III: Terapias avanzadas y nuevas tecnologías en biomedicina. Es una asignatura de carácter práctico optativo que consta de dos partes: Detección de Mutaciones y Genotipado. Se imparte durante dos semanas del segundo cuatrimestre en horario de mañana.

1.1 Contextualización

El curso es optativo y su estudio permite el aprendizaje y comprensión de técnicas que se emplean de forma habitual en investigación biomédica, así como en diagnóstico clínico lo que las hace muy interesantes en el contexto de este Máster. Además, su conocimiento le será de gran utilidad al alumnado para analizar de forma crítica los resultados de trabajos y artículos de investigación que se encuentre en otros cursos del Máster, así como en la realización de su Trabajo del Fin de Máster.

El carácter aplicado de estas asignaturas y el énfasis en la manipulación y el trabajo en el laboratorio hacen que esté diseñado para desarrollar solamente algunas de las competencias generales y específicas del Máster, a diferencia de todos los otros módulos en los que el conjunto de asignaturas que los componen cubre la práctica totalidad de las competencias.

El Bloque “Detección de Mutaciones” está centrado en el estudio de tres técnicas empleadas para la detección de mutaciones tanto a nivel de investigación biomédica como de diagnóstico clínico.

El Bloque “Genotipado” está centrado en familiarizarse con el uso de ratones transgénicos como modelos para enfermedades genéticas en humanos

1.2 Relación con otras materias

Aplicaciones de la Biología Molecular y PCR cuantitativa
Análisis Ómicos aplicados a la clínica
Genética Clínica y Terapia Génica

1.3 Prerrequisitos

Es recomendable que el alumno tenga conocimientos previos de biología molecular y de genética.

Es recomendable cursar junto con Análisis Ómicos aplicados a la clínica.



2. Competencias

2.1 Generales

- RA6.- Reconocer las alteraciones genéticas subyacentes a las enfermedades humanas más comunes y de mayor relevancia social.
- RA12.- Utilizar las diferentes técnicas en investigación biomédica en el laboratorio.
- RA13.- Seguir un protocolo experimental de investigación biomédica de forma autónoma.
- RA14.- Interpretar los resultados obtenidos en los experimentos.
- RA26.- Ser capaz de trabajar en equipo en un ambiente multidisciplinar para conseguir objetivos comunes desde perspectivas diferenciadas.

2.2 Específicas

- RA15.- Analizar secuencias génicas en fragmentos de ADN de interés terapéutico e investigador
- 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
- RA23.- Diseñar experimentos en el campo de la investigación biomédica, aplicando las técnicas adecuadas para responder a la pregunta pertinente



3. Objetivos

Los/as estudiantes serán capaces de:

- Llevar a cabo la detección de mutaciones en genes implicados en enfermedades mono-génicas. Analizar e interpretar los resultados obtenidos en la búsqueda de mutaciones y a valorar si la muestra es homocigótica o heterocigótica para la mutación que se analiza, así como las posibles repercusiones clínicas de dicha mutación.
- Describir como se produce la generación y el mantenimiento de ratones transgénicos. Utilizar las distintas técnicas para el genotipaje de ratones transgénicos y determinar e interpretar el genotipo de un ratón transgénico. Así como elaborar un protocolo documentando adecuadamente el genotipaje de un ratón transgénico





4. Contenidos y/o bloques temáticos

Bloque 1: "Nombre del Bloque"

Detección de Mutaciones

Carga de trabajo en créditos ECTS: 1.5

a. Contextualización y justificación

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.

b. Objetivos de aprendizaje

Se pretende que el alumno:

1. Conozca los fundamentos de las tres técnicas impartidas (HRM, Secuenciación Sanger y MLPA), sus aplicaciones y aprenda a valorar e interpretar los resultados.
2. Se familiarice con el manejo de los aparatos necesarios para desarrollar las técnicas y sea capaz de planificar, preparar y llevar a cabo la detección de mutaciones en genes implicados en enfermedades monogénicas.
3. Aprenda a analizar e interpretar los resultados obtenidos y a valorar si la muestra es homocigótica o heterocigótica para la mutación que se analiza, así como las posibles repercusiones clínicas de dicha mutación.

c. Contenidos

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.

d. 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.

Las clases teóricas se impartirán en el salón de actos del IBGM.

Las sesiones prácticas se realizarán en grupo de no más de 4 alumnos y se trabajará en laboratorios con el equipamiento necesario.

Las sesiones de análisis y revisión de resultados se realizarán en el salón de actos o en la biblioteca del IBGM en grupos de 4-8 personas.



e. Plan de trabajo

Este curso está organizado entorno al estudio de tres técnicas de análisis de mutaciones que son:

1. Análisis de DNA mediante High Resolution Melting (HRM). Que consiste en analizar y comparar las curvas de melting de fragmentos de DNA amplificados mediante PCR utilizando agentes intercalantes como el SYBR Green.
2. Secuenciación mediante el método de Sanger. En este método, la reacción de secuenciación se basa en una modificación de la PCR con dideoxynucleótidos marcados con fluoróforos y se resuelve mediante una electroforesis capilar que se realizará en un secuenciador AbiPrism 3130XL.
3. Análisis de grandes reestructuraciones mediante MLPA. Esta técnica permite detectar Variantes del Número de Copias (CNVs) que no son detectables por las técnicas anteriores. Este método semicuantitativo determina el número de copias relativas de ADN en una sola reacción de PCR multiplex.

Dentro de cada una de estas técnicas se realizarán el mismo grupo de actividades:

- a. Sesiones teóricas, en las que se explican los conceptos básicos y fundamentos técnicos
- b. Sesiones prácticas, en las que los alumnos se organizan grupos de 3-5 alumnos. Tras presentar la instrumentación empleada en la técnica, cada grupo ha de diseñar, preparar y llevar a cabo los experimentos que se les indique. Siempre bajo la supervisión de un profesor.
- c. Sesiones de análisis y evaluación, en las que los alumnos han de ser capaces de presentar, interpretar y discutir los resultados obtenidos manejando los programas de análisis indicados para cada técnica.
- d. 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.

f. Evaluación

Evaluación continua (10% nota final) y examen final (90% de la nota final)

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 el alumno 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.

g. Bibliografía básica

1. Er TK, Chang JG. High-resolution melting: applications in genetic disorders. Clin Chim Acta. 2012 Dec 24;414:197-201. doi: 10.1016/j.cca.2012.09.012.
2. Erali M, Voelkerding KV, Wittwer CT. High resolution melting applications for clinical laboratory medicine. Exp Mol Pathol. 2008 Aug;85(1):50-8. doi: 10.1016/j.yexmp.2008.03.012.



3. Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwijnenburg D, Diepvens F, Pals G. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res.* 2002 Jun 15;30(12):e57. doi: 10.1093/nar/gnf056.
4. Smith LM, Sanders JZ, Kaiser RJ, Hughes P, Dodd C, Connell CR, Heiner C, Kent SB, Hood LE. Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. *Nature.* 1986 Jun 12-18;321(6071):674-9. doi: 10.1038/321674a0.
5. Dorit RL, Ohara O, Hwang CB, Kim JB, Blackshaw S. Direct DNA sequencing of PCR products. *Curr Protoc Mol Biol.* 2001 Nov;Chapter 15:Unit 15.2. doi: 10.1002/0471142727.mb1502s56. PMID: 18265116.
6. Slatko BE, Albright LM, Tabor S, Ju J. DNA sequencing by the dideoxy method. *Curr Protoc Mol Biol.* 2001 May;Chapter 7:Unit7.4A. doi: 10.1002/0471142727.mb0704as47.

h. Bibliografía complementaria

i. Recursos necesarios

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

Sesiones prácticas, laboratorio con el equipamiento (termociclador, secuenciador) y material fungible (reactivos y material de plástico) necesario para realizar los experimentos

j. Temporalización

CARGA ECTS	PERIODO PREVISTO DE DESARROLLO
1,5	24 de marzo de 2025 al 4 de abril 2025



Bloque 2: “Nombre del Bloque”

Genotipado

Carga de trabajo en créditos ECTS:

a. Contextualización y justificación

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.

b. Objetivos de aprendizaje

- Obtener una visión global sobre la generación y el mantenimiento de ratones transgénicos.
- Comprender las distintas técnicas para el genotipaje de ratones transgénicos.
- Determinar e interpretar el genotipo de un ratón transgénico
- Elaborar un protocolo documentando adecuadamente el genotipaje de un ratón transgénico.

c. Contenidos

- Visualización de un gen reportero en embriones transgénicos.
- Toma de biopsia y aislamiento del DNA genómico.
- Diseño de cebadores específicos.
- PCR
- Análisis e interpretación de resultados.

d. Métodos docentes

El curso consta de dos tipos de actividades:

- dos sesiones teóricas de explicación de los contenidos de la asignatura y una visita al animalario de ratones transgénicos y
- tres sesiones prácticas en las que los alumnos extraen el ADN genómico a partir de una biopsia de cola de ratón, realizan una PCR, separan los productos de PCR mediante electroforesis de DNA e interpretan los resultados.

e. Plan de trabajo

Día 1: Conceptos generales sobre los ratones modificados genéticamente y cómo se generan

Día 2: Recoger muestra de tejido

Día 3: Día 2: Preparación De ADN Genómico

Día 4: Día 3: PCR y preparación de gel de agarosa

Día 5: Día 4: Separación de ADN en el gel, tinción de embriones

f. Evaluación

Se realiza un seguimiento de la participación del alumno a lo largo de todo el curso. Se valora especialmente las preguntas y comentarios del alumno durante la realización del curso. Las clases teóricas se evaluarán como una pregunta adicional en el examen del Bloque 1.



g. Bibliografía básica

1. Kaufmann, mouse atlas
2. Barresi M.J.F. & Gilbert S.F. Developmental Biology 13th Edition (2023)

h. Bibliografía complementaria

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

i. Recursos necesarios

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

Sesiones prácticas, laboratorio con el equipamiento (termociclador, secuenciador) y material fungible (reactivos y material de plástico) necesario para realizar los experimentos

j. Temporalización

CARGA ECTS	PERIODO PREVISTO DE DESARROLLO
1,5	24 de marzo de 2025 al 4 de abril 2025

5. Métodos docentes y principios metodológicos

- Sesiones teóricas de explicación de conceptos básicos que se impartirán en el IBGM.
- Sesiones prácticas para diseñar y preparar un experimento. Se realizarán en grupos menores de 4 alumnos y se trabajará en laboratorios con el equipamiento necesario.
- Las sesiones de análisis, interpretación y discusión de los resultados obtenidos en las sesiones de prácticas. Se realizarán en el salón de actos o en la biblioteca del IBGM en grupos de 4-8 personas.

Se publicarán en la plataforma del Campus Virtual los materiales necesarios para el desarrollo del curso los días previos al comienzo del mismo.



6. Tabla de dedicación del estudiante a la asignatura

ACTIVIDADES PRESENCIALES	HORAS	ACTIVIDADES NO PRESENCIALES	HORAS
Clases teóricas	6	Estudio y trabajo personal	16
Seminarios y Prácticas	24	Discusión, preparación y presentación de trabajo	3
Sesiones de análisis y revisión	2	Elaboración y presentación de memorias	4
Tutorías	1		
Total presencial	33	Total no presencial	23
		Total	56

7. Sistema y características de la evaluación

INSTRUMENTO/PROCEDIMIENTO	PESO EN LA NOTA FINAL	OBSERVACIONES
Evaluación continua del progreso en prácticas	10%	Evaluación continua del progreso en prácticas en Bloque 1 y Bloque 2
Examen final escrito, presencial	70%	Examen final escrito bloque1 (Detección de Mutaciones)
Evaluación del protocolo de genotipado	20%	Bloque Genotipado

CRITERIOS DE CALIFICACIÓN

La nota final de la asignatura será la suma de las calificaciones obtenidas en los bloques de Detección de Mutaciones y Genotipado. Para aprobar la asignatura es necesario obtener al menos 5 puntos sobre 10 en cada una de las partes de la asignatura y que la nota sea igual o superior a 5

- **Convocatoria ordinaria:** Suma de las dos calificaciones mencionadas. Para aprobar la asignatura se exige un mínimo de 5 puntos sobre 10 para cada uno de los bloques
- **Convocatoria extraordinaria:** Mismo sistema de evaluación. El alumno conservará la nota de la evaluación continua de la anterior convocatoria

8. Consideraciones finales