



| Guía Docente          |  |                    |                                       |          |
|-----------------------|--|--------------------|---------------------------------------|----------|
| Datos Identificativos |  |                    |                                       | 2018/19  |
| Asignatura (*)        | Técnicas de Manipulación e Análise de Ácidos Nucleicos   | Código             | 653862227                             |          |
| Titulación            | Mestrado Universitario en Asistencia e Investigación Sanitaria (plan 2012)   |                    |                                       |          |
| Descritores           |  |                    |                                       |          |
| Ciclo                 | Período  | Curso              | Tipo                                  | Créditos |
| Mestrado Oficial      | 2º cuatrimestre  | Primeiro           | Obrigatoria                           | 6        |
| Idioma                | CastelánGalegoInglés   |                    |                                       |          |
| Modalidade docente    | Presencial   |                    |                                       |          |
| Prerrequisitos        |  |                    |                                       |          |
| Departamento          | Ciencias Biomédicas, Medicina e Fisioterapia   |                    |                                       |          |
| Coordinación          | Díaz Prado, Silvia María   | Correo electrónico | s.diaz1@udc.es                        |          |
| Profesorado           | Díaz Prado, Silvia María<br>Rey Rico, Ana  | Correo electrónico | s.diaz1@udc.es<br>ana.rey.rico@udc.es |          |
| Web                   | <a href="http://www.udc.es/fcs/ga/index.htm">http://www.udc.es/fcs/ga/index.htm</a>  |                    |                                       |          |
| Descrición xeral      | Estudo das técnicas de manipulación e análise de ácidos nucleicos de uso habitual nos laboratorios de investigación biomédica. |                    |                                       |          |

| Competencias / Resultados do título |   |
|-------------------------------------|---|
| Código                              | Competencias / Resultados do título   |
| A1                                  | Capacidade para elixir e aplicar as metodoloxías de investigación mais adecuadas á investigación proposta.  |
| A2                                  | Capacidade para o deseño experimental e o completo desenvolvemento de proxectos de investigación no ámbito sanitario, desde a formulación da hipótese de investigación ata a comunicación dos resultados. |
| B1                                  | Capacidade para aplicar o método científico na planificación e o desenvolvemento da investigación sanitaria.  |
| B2                                  | Fluidez e propiedade na comunicación científica oral e escrita.   |
| B3                                  | Compromiso pola calidade do desenvolvemento da actividade investigadora.  |
| B4                                  | Capacidade de análise e de síntese.   |
| B5                                  | Habilidade para manexar distintas fontes de información.  |
| B6                                  | Capacidade para traballar de forma colaborativa en equipos multi e interdisciplinar.  |
| B7                                  | Capacidade de establecer unha relación de empatía cos suxeitos implicados no desenvolvemento da actividade investigadora.   |
| C1                                  | Expresarse correctamente, tanto de forma oral coma escrita, nas linguas oficiais da comunidade autónoma.  |
| C2                                  | Dominar a expresión e a comprensión de forma oral e escrita dun idioma estranxeiro.   |
| C3                                  | Utilizar as ferramentas básicas das tecnoloxías da información e as comunicacións (TIC) necesarias para o exercicio da súa profesión e para a aprendizaxe ao longo da súa vida.                           |
| C5                                  | Entender a importancia da cultura emprendedora e coñecer os medios ao alcance das persoas emprendedoras.  |
| C6                                  | Valorar criticamente o coñecemento, a tecnoloxía e a información dispoñible para resolver os problemas cos que deben enfrontarse.   |
| C7                                  | Asumir como profesional e cidadán a importancia da aprendizaxe ao longo da vida.  |
| C8                                  | Valorar a importancia que ten a investigación, a innovación e o desenvolvemento tecnolóxico no avance socioeconómico e cultural da sociedade.   |

| Resultados da aprendizaxe  |  |                                     |     |     |
|--|--|-------------------------------------|-----|-----|
| Resultados de aprendizaxe  |  | Competencias / Resultados do título |     |     |
| Coñecer diferentes técnicas de illamento de ADN e de ARN e, en particular, a técnica de PCR. |  | AI1                                 | CM1 |     |
|  |  | AI2                                 | BM1 | CM2 |
|  |  |                                     | BM2 | CM3 |
|  |  |                                     | BM3 | CM4 |
|  |  |                                     | BM4 | CM5 |
|  |  |                                     | BM5 | CM6 |
|  |  |                                     | BM6 | CM7 |
|  |  |                                     | BM7 | CM8 |



|  |            |   |   |
|--|------------|---|---|
| Alcanzar unha visión ampla de diferentes técnicas empregadas para a detección e análise da variabilidade xenética e da mutación. | AI1<br>AI2 | BM1<br>BM2<br>BM3<br>BM4<br>BM5<br>BM6<br>BM7 | CM1<br>CM2<br>CM3<br>CM5<br>CM6<br>CM7<br>CM8 |
| Coñecer o funcionamento da PCR a Tempo Real.   | AI1<br>AI2 | BM1<br>BM2<br>BM3<br>BM4<br>BM5<br>BM6<br>BM7 | CM1<br>CM2<br>CM3<br>CM5<br>CM6<br>CM7<br>CM8 |
| Comprensión da técnica de secuenciación de ADN.  | AI1<br>AI2 | BM1<br>BM2<br>BM3<br>BM4<br>BM5<br>BM6<br>BM7 | CM1<br>CM2<br>CM3<br>CM5<br>CM6<br>CM7<br>CM8 |
| Entender os principios da técnica de FISH e coñecer as súas principais aplicacións.  | AI1<br>AI2 | BM1<br>BM2<br>BM3<br>BM4<br>BM5<br>BM6<br>BM7 | CM1<br>CM2<br>CM3<br>CM5<br>CM6<br>CM7<br>CM8 |
| Adquirir un coñecemento teórico e práctico de como realizar mutaxénese do ADN.   | AI1<br>AI2 | BM1<br>BM2<br>BM3<br>BM4<br>BM5<br>BM6<br>BM7 | CM1<br>CM2<br>CM3<br>CM5<br>CM6<br>CM7<br>CM8 |
| Coñecer técnicas de manipulación xenética e as súas aplicacións en Enxeñería Xenética.   | AI1<br>AI2 | BM1<br>BM2<br>BM3<br>BM4<br>BM5<br>BM6<br>BM7 | CM1<br>CM2<br>CM3<br>CM5<br>CM6<br>CM7<br>CM8 |
| Coñecer técnicas empregadas na xeneración dos vectores retrovirais e a transdución de células diana.                             | AI1<br>AI2 | BM1<br>BM2<br>BM3<br>BM4<br>BM5<br>BM6        | CM1<br>CM2<br>CM3<br>CM5<br>CM6<br>CM7<br>CM8 |



| Contidos  |   |
|---|---|
| Temas   | Subtemas  |
| Tema 1. Os ácidos nucleicos.  | 1.1. Estrutura dos ácidos nucleicos.<br>1.2. Función dos ácidos nucleicos.<br>1.3. Illamento dos ácidos nucleicos.<br>1.4. Cuantificación dos ácidos nucleicos.   |
| Tema 2. A Reacción en Cadea da Polimerasa (PCR).                                      | 2.1. Variantes do método da PCR.<br>2.2 PCR cuantitativa ou en tempo real (qPCR): cuantificación absoluta e relativa.<br>2.3. Aplicacións da PCR na investigación médica.   |
| Tema 3. A variabilidade xenética.   | 3.1. Técnicas de análise da variabilidade xenética: PCR e secuenciación do ADN.<br>3.2. Variabilidade xenética do ADN mitocondrial.   |
| Tema 4. Ferramentas bioinformáticas para o análise de secuencias de ácidos nucleicos. | 4.1. Para o análise de secuencias codificantes e non codificantes.<br>4.2. Para a búsqueda de polimorfismos e variabilidade en estudos poblacionais.<br>4.3. Para o análise de secuencias repetitivas e a súa implicación en diversas patoloxías. |
| Tema 5. Técnicas de inmunoprecipitación da cromatina (ChIP).                          | 5.1. Para a detección de proteínas unidas a secuencias de ADN (ADN-ChIP)<br>5.2. Para a detección de proteínas unidas a secuencias de ARN (ARN-ChIP).   |
| Tema 6. Introdución á citoxenética molecular.   | 6.1. Hibridación in-situ fluorescente (FISH). 6.2. Aplicacións da citoxenética na investigación: DNA Breakage Detection-FISH (DBD-FISH) e COFISH.   |
| Tema 7. Metodoloxía da mutaxénese aleatoria e dirixida do ADN.                        | 7.1. Aplicacións prácticas da mutaxénese aleatoria no laboratorio de investigación.   |
| Tema 8. Enxeñería xenética.   | 8.1. A tecnoloxía do ADN recombinante.<br>8.2. Métodos de entrega de ADN: transfección e transducción.<br>8.3. Investigación en animais transxénicos. 8.4. Xeración de animais ?knockout?.  |



|   |   |
|---|---|
| <p><b>PRÁCTICAS.</b></p> <p>1.- Illamento do ARN a partir dun cultivo celular.</p> <p>2.- Desenrrolo dunha RT-PCR</p> <p>3.- Desenrrolo dunha PCR en tempo real. 4.- Secuenciación de ADN. 5.- Software de análise.</p> <p>6.- Co-immunoprecipitación.</p> <p>7.- Estudo citoxenético.</p> <p>8.- Mutaxénese.</p> <p>9.- Transfección.</p> <p>10.- Observación de resultados.</p> | <p><b>PRÁCTICAS (desenvolvemento):</b></p> <p>1.- Illamento do ARN a partir dun cultivo celular. Cuantificación e análise do ARN illado mediante bioanализador.</p> <p>2.- Desenrrolo dunha RT-PCR: preparación das reaccións e programación do termociclador. Análise do ADNc obtido trala RT-PCR.</p> <p>3.- Desenrrolo dunha PCR en tempo real: preparación das reacción e programación do termociclador. Interpretación dos resultados obtidos.</p> <p>4.- Secuenciación de ADN. Visualización e funcionamento dun secuenciador automático de ADN.</p> <p>5.- Software de análise. Emprego de diferentes softwares para a análise de secuencias de ácidos nucleicos.</p> <p>6.- Co-immunoprecipitación e identificación dos complexos proteicos que interaccionan cunha determinada proteína.</p> <p>7.- Estudo citoxenético. Preparación de mostras para estudo citoxenético (cariotipo e FISH). Clasificación de cromosomas no cariotipo e identificación de anomalías cromosómicas mediante FISH.</p> <p>8.- Mutaxénese. Mutaxénese dirixida de dominios ou residuos aminoacídicos en xenes de interese clínico. Estudos fenotípicos da selección de mutantes.</p> <p>9.- Transfección de plásmidos en células eucariotas ou procariotas e estudo das células transfectadas.</p> <p>10.- Observación de resultados. Observación ó microscopio de liñas de empacquetamento.</p> |
|---|---|

| Planificación              |   |   |                         |              |
|----------------------------|---|---|-------------------------|--------------|
| Metodoloxías / probas      | Competencias / Resultados                             | Horas lectivas (presenciais e virtuais) | Horas traballo autónomo | Horas totais |
| Lecturas                   | B2 B4 B5 C1 C2 C3<br>C6                               | 0                                       | 50                      | 50           |
| Prácticas de laboratorio   | A1 A2 B1 B2 B3 B4<br>B5 B6 B7 C1 C2 C3<br>C5 C6 C7 C8 | 28                                      | 28                      | 56           |
| Proba de resposta múltiple | A2 B1 B4  | 1                                       | 0                       | 1            |
| Sesión maxistral           | A1 A2 B1 C5 C6 C8                                     | 13                                      | 26                      | 39           |
| Atención personalizada     |   | 4                                       | 0                       | 4            |

\*Os datos que aparecen na táboa de planificación son de carácter orientativo, considerando a heteroxeneidade do alumnado

| Metodoloxías               |   |
|----------------------------|---|
| Metodoloxías               | Descrición  |
| Lecturas                   | Lectura dun artigo científico relevante e relacionado coa materia impartida.  |
| Prácticas de laboratorio   | Desenvólvense técnicas de uso actual en investigación biomédica, que complementan os coñecementos impartidos na sesión maxistral. |
| Proba de resposta múltiple | Exame tipo test, no que cada pregunta consiste en 4 afirmacións das que só unha é correcta.                                       |
| Sesión maxistral           | Clase teórica participativa, favorecendo o intercambio de opinións, o debate e a resposta das preguntas formuladas polo alumnado. |

| Atención personalizada |            |
|------------------------|------------|
| Metodoloxías           | Descrición |



|  |   |
|--|---|
| Lecturas<br>Prácticas de laboratorio<br>Sesión maxistral | <p>Ó tratarse dun grupo reducido de alumnos, é posible a resolución de dúbidas e o seguimento individualizado durante o mesmo proceso de aprendizaxe.</p> <p>En particular, a sesión maxistral é participativa, favorecendo o intercambio de opinións, o debate e a resposta das preguntas formuladas.</p> <p>As prácticas de laboratorio son tuteladas en todo momento polo profesorado e, se é necesario, polo grupo de investigación no que se integra o alumno (desde o comezo do curso, cada alumno se integra no grupo de investigación no que vai desenvolver o seu Tralaballo Fin de Mestrado).</p> |
|--|---|

| Avaliación                 |   |   |               |
|----------------------------|---|---|---------------|
| Metodoloxías               | Competencias / Resultados                             | Descrición  | Cualificación |
| Prácticas de laboratorio   | A1 A2 B1 B2 B3 B4<br>B5 B6 B7 C1 C2 C3<br>C5 C6 C7 C8 | Ó tratarse de un grupo reducido de alumnos, é posible un seguimento personalizado que facilita a avaliación continua. Terase en conta a asistencia, a participación activa e o traballo desenvolvido polo alumno. | 50            |
| Proba de resposta múltiple | A2 B1 B4  | Exame tipo test, no que cada pregunta consiste en 4 afirmacións das que só unha é correcta.   | 50            |

| Observacións avaliación  |
|--|
| Para aprobar a materia, hai que obter globalmente un mínimo de 5 sobre 10 e, en cada metodoloxía avaliada, un mínimo de 2,5 sobre 5. |

| Fontes de información              |   |
|------------------------------------|---|
| <b>Bibliografía básica</b>         | <p>Bibliografía Básica:1.- Kristin Edwards, Julie Logan and Nick Saunders. Real Time PCR: An essential guide. Genomics Proteomics and Bioinformatics Unit, Health Protection Agency, London. Horizon Bioscience (2004).2.- Griffiths, Miller, Suzuki, Lewontin &amp; Gelbart. Genética (7ª edición). Editorial McGraw-Hill (2001).3.- Sambrook J et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, second ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (1989).</p>  |
| <b>Bibliografía complementaria</b> | <p>Libros- Kirstin Edwards, Julie Logan and Nick Saunders. Real Time PCR: An essential guide. Genomics Proteomics and Bioinformatics Unit, Health Protection Agency, London. Horizon Bioscience (2004).- Rautenstrauss B, Liehr T. FISH Technology. Springer Lab Manual. Springer, Berlin (2002). Artigos- Bustin SA, Nolan T. Pitfalls of quantitative real-time reverse transcription polymerase chain reaction. Journal of Biomolecular Techniques 2004; 15:155-66.- Bustin SA. Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR: trends and problems. J Mol Endocrinol 2002; 29: 23-9.- Chen G, Sun H, Yang H, Kubelik D, Garcia B, Luo Y, Xiang Y, Qian A, Copeman L, Liu W, Cardella CJ, Wang W, Xiong Y, Wall W, White DJ, Zhong R. The role of anti-non-Gal antibodies in the development of acute humoral xenograft rejection of hDAF transgenic porcine kidneys in baboons receiving anti-Gal antibody neutralization therapy. Transplantation 2006; 81:273-83.- Dinnyes A, Szmolenszky A. Animal cloning by nuclear transfer: state-of-the-art and future perspectives. 2005; 52:585-8.- Helfand MS, Bethel CR, Hujer AM, Hujer KM, Anderson VE, Bonomo RA. Understanding resistance to beta-lactams and beta-lactamase inhibitors in the SHV beta-lactamase: lessons from the mutagenesis of SER-130. J Biol Chem 2003; 278:52724-9. - Kay MA, Glorioso JC, Naldini L. Viral vectors for gene therapy: the art of turning infectious agents into vehicles of therapeutics. Nat Med 2001; 7:33-40.- Nelson JD, Denisenko O, Bomsztyk K. Protocol for the fast chromatin immunoprecipitation (ChIP) method. Nature protocols 2006; 1:179-85.- Rego I, Fernández-Moreno M, Fernández-López C, Gómez-Reino JJ, González A, Arenas J, Blanco FJ. Role of European mitochondrial DNA haplogroups in the prevalence of hip osteoarthritis in Galicia, Northern Spain. Ann Rheum Dis. 2010; 69:210-3. Páxinas web- DNA sequencing Tutorials: <a href="http://bioweb.uwlax.edu/GenWeb/Molecular/Theory/DNA_sequencing/dna_sequencing.htm">http://bioweb.uwlax.edu/GenWeb/Molecular/Theory/DNA_sequencing/dna_sequencing.htm</a>- Human Molecular Genetics 2. Tom Strachan; Ed. John Wiley &amp; Sons. A texto completo en <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=books">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=books</a>- Universal Probe Library de Roche Applied Science: <a href="http://www.universalprobelibrary.com">http://www.universalprobelibrary.com</a></p> |



## Recomendacións

Materias que se recomenda ter cursado previamente

Materias que se recomenda cursar simultaneamente

Materias que continúan o temario

## Observacións

Para axudar a conseguir una contorna inmediata sustentable e cumprir o obxectivo estratéxico 3 do II Plan de Sustentabilidade Medio-ambiental Green Campus FCS, todos os traballos documentais que se realicen nesta materia serán entregados a través de Moodle, en formato dixital, sen necesidade de imprimilos.

De realizarse en papel:

- Non se empregarán plásticos.
- Realizaranse impresións a dobre cara.
- Empregarase papel reciclado.
- Evitarase imprimir borradores.

(\*)A Guía docente é o documento onde se visualiza a proposta académica da UDC. Este documento é público e non se pode modificar, salvo casos excepcionais baixo a revisión do órgano competente dacordo coa normativa vixente que establece o proceso de elaboración de guías