



Guía Docente				
Datos Identificativos				2018/19
Asignatura (*)	Técnicas de Manipulación e Análise de Ácidos Nucleicos	Código	653862227	
Titulación				
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 Rey Rico, Ana	Correo electrónico	s.diaz1@udc.es ana.rey.rico@udc.es	
Web	http://www.udc.es/fcs/ga/index.htm			
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

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	BM1	CM1
	AI2	BM2	CM2
		BM3	CM3
		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	BM1	CM1
	AI2	BM2	CM2
		BM3	CM3
		BM4	CM5
		BM5	CM6
		BM6	CM7
		BM7	CM8
Coñecer o funcionamento da PCR a Tempo Real.	AI1	BM1	CM1
	AI2	BM2	CM2
		BM3	CM3
		BM4	CM5
		BM5	CM6
		BM6	CM7
		BM7	CM8



Comprensión da técnica de secuenciación de ADN.	AI1 AI2	BM1 BM2 BM3 BM4 BM5 BM6 BM7	CM1 CM2 CM3 CM5 CM6 CM7 CM8
Entender os principios da técnica de FISH e coñecer as súas principais aplicacións.	AI1 AI2	BM1 BM2 BM3 BM4 BM5 BM6 BM7	CM1 CM2 CM3 CM5 CM6 CM7 CM8
Adquirir un coñecemento teórico e práctico de como realizar mutaxénese do ADN.	AI1 AI2	BM1 BM2 BM3 BM4 BM5 BM6 BM7	CM1 CM2 CM3 CM5 CM6 CM7 CM8
Coñecer técnicas de manipulación xenética e as súas aplicacións en Enxeñería Xenética.	AI1 AI2	BM1 BM2 BM3 BM4 BM5 BM6 BM7	CM1 CM2 CM3 CM5 CM6 CM7 CM8
Coñecer técnicas empregadas na xeneración dos vectores retrovirais e a transdución de células diana.	AI1 AI2	BM1 BM2 BM3 BM4 BM5 BM6	CM1 CM2 CM3 CM5 CM6 CM7 CM8

Contidos	
Temas	Subtemas
Tema 1. Os ácidos nucleicos.	1.1. Estrutura dos ácidos nucleicos. 1.2. Función dos ácidos nucleicos. 1.3. Illamento dos ácidos nucleicos. 1.4. Cuantificación dos ácidos nucleicos.
Tema 2. A Reacción en Cadea da Polimerasa (PCR).	2.1. Variantes do método da PCR. 2.2 PCR cuantitativa ou en tempo real (qPCR): cuantificación absoluta e relativa. 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. 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. 4.2. Para a búsqueda de polimorfismos e variabilidade en estudos poblacionais. 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) 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. 8.2. Métodos de entrega de ADN: transfección e transducción. 8.3. Investigación en animais transxénicos. 8.4. Xeración de animais ?knockout?.
PRÁCTICAS. 1.- Illamento do ARN a partir dun cultivo celular. 2.- Desenrolo dunha RT-PCR 3.- Desenrolo dunha PCR en tempo real. 4.- Secuenciación de ADN. 5.- Software de análise. 6.- Co-immunoprecipitación. 7.- Estudo citoxenético. 8.- Mutaxénese. 9.- Transfección. 10.- Observación de resultados.	PRÁCTICAS (desenvolvemento): 1.- Illamento do ARN a partir dun cultivo celular. Cuantificación e análise do ARN illado mediante bioanizador. 2.- Desenrolo dunha RT-PCR: preparación das reaccións e programación do termociclador. Análise do ADNc obtido trala RT-PCR. 3.- Desenrolo dunha PCR en tempo real: preparación das reacción e programación do termociclador. Interpretación dos resultados obtidos. 4.- Secuenciación de ADN. Visualización e funcionamento dun secuenciador automático de ADN. 5.- Software de análise. Emprego de diferentes softwares para a análise de secuencias de ácidos nucleicos. 6.- Co-immunoprecipitación e identificación dos complexos proteicos que interaccionan cunha determinada proteína. 7.- Estudo citoxenético. Preparación de mostras para estudo citoxenético (cariotipo e FISH). Clasificación de cromosomas no cariotipo e identificación de anomalías cromosómicas mediante FISH. 8.- Mutaxéneses. Mutaxénese dirixida de dominios ou residuos aminoacídicos en xenes de interese clínico. Estudos fenotípicos da selección de mutantes. 9.- Transfección de plásmidos en células eucariotas ou procariotas e estudo das células transfectadas. 10.- Observación de resultados. Observación ó microscopio de liñas de empacquetamento.

Planificación				
Metodoloxías / probas	Competencias / Resultados	Horas lectivas (presenciais e virtuais)	Horas traballo autónomo	Horas totais
Lecturas	B2 B4 B5 C1 C2 C3 C6	0	50	50



Prácticas de laboratorio	A1 A2 B1 B2 B3 B4 B5 B6 B7 C1 C2 C3 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	Desenvólense 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 Prácticas de laboratorio 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 Tráballo Fin de Mestrado).</p>

Avaliación			
Metodoloxías	Competencias / Resultados	Descrición	Cualificación
Prácticas de laboratorio	A1 A2 B1 B2 B3 B4 B5 B6 B7 C1 C2 C3 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	
Bibliografía básica	<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 & 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>



Bibliografía complementaria	<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: http://bioweb.uwlax.edu/GenWeb/Molecular/Theory/DNA_sequencing/dna_sequencing.htm- Human Molecular Genetics 2. Tom Strachan; Ed. John Wiley & Sons. A texto completo en http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=books- Universal Probe Library de Roche Applied Science: http://www.universalprobelibrary.com</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