

CURSO "TÉCNICAS ELECTROFORÉTICAS"

Profesorado:

Francisco Javier Campoy Menéndez (fjcampoy@um.es; 968-367607) (Prof. responsable)
Encarnación Muñoz Delgado (encarna@um.es; 968-364769)
Cecilio Jesús Vidal Moreno (cevidal@um.es; 968-364774)

Créditos y distribución:

5 créditos ECTS (125 horas):

10 horas teóricas 35 horas prácticas 80 horas de trabajo personal

Objetivos pedagógicos:

- Conocer los fundamentos teóricos de la electroforesis y sus tipos principales, en particular la electroforesis en gel.
- Aprender de modo práctico el procedimiento para llevar a cabo distintos tipos de electroforesis y métodos relacionados.
- Constatar la aplicabilidad de las diversas modalidades de electroforesis para la identificación, cuantificación, caracterización, y obtención de macromoléculas de interés.

Programa Teórico:

Fundamentos de la electroforesis. Electroforesis de frente móvil y electroforesis zonal. Tipos de soporte. Electroforesis en papel. Geles de poliacrilamida y de agarosa. PAGE de proteínas. Modalidades en tubo y en placa. Sistemas continuo y discontinuo. PAGE nativa, SDS-PAGE y otras modalidades. Isoelectroenfoque (IEF) y NEPHGE. Electroforesis bidimensional. Electroforesis de proteínas en geles de agarosa. Métodos de detección de proteínas: tinciones de proteína, de actividad, Western-blot y otros. Aplicaciones de la electroforesis de proteínas. Electroforesis de ácidos nucleicos. Geles de agarosa y de poliacrilamida en condiciones nativas y desnaturizantes. Métodos de detección de ácidos nucleicos: Southern. Estudio de interacciones entre proteínas y DNA. Electroforesis en campo pulsante (PFGE). Aplicaciones de la electroforesis de ácidos nucleicos. Electroforesis capilar.

Se tratan los fundamentos teóricos, procedimientos experimentales, parámetros de separación, y aplicaciones prácticas de estos procedimientos para el análisis y obtención de proteínas y ácidos nucleicos.

Programa Práctico:

- Electroforesis SDS-PAGE. Tinción de proteínas por Coomassie y por plata.
- Electroforesis nativa de proteínas. Tinción de actividad enzimática.
- Transferencia a membranas y Western-blot.
- Isoelectroenfoque.
- Electroforesis de ADN en geles de agarosa.
- Secado de geles.

Trabajo Personal del Alumno:

La labor personal del alumno fuera del horario oficial de clase incluye:

- Elaboración de una memoria de prácticas describiendo los procedimientos empleados, los resultados obtenidos y su interpretación.
- Elaboración de un trabajo escrito sobre la metodología y utilidad de una técnica electroforética, basado en la bibliografía.
- Preparación de la prueba escrita sobre los contenidos teóricos y prácticos de la

asignatura.

Bibliografía:

- Ausubel, F.M., Brent, R., Kingston, R., Moore, D., Seidman, J., Smith, J., Struh, K. Short Protocols in Molecular Biology, 5ª ed. Wiley, 2002.
- Dunn, M.J. Gel Electrophoresis: Proteins. βios Scientific Publishers, 1993.
- Freifelder, D. Técnicas de Bioquímica y Biología Molecular. Reverté, 1991.
- García-Segura, J.M., Gavilanes, J.G., Martínez, A., Montero, F., Oñaderra, M., Vivanco, F. Técnicas Instrumentales de Análisis en Bioquímica. Síntesis, 1999.
- Hames, B.D. Gel Electrophoresis of Proteins: A Practical Approach, 3ª ed. IRL Press, 1998.
- Martin, R. Gel Electrophoresis: Nucleic Acids. βios Scientific Publishers, 1996.
- Rickwood, D., Hames, B.D. Gel Electrophoresis of Nucleic Acids, 2ª ed. The Practical Approach Series. IRL Press, 1990.
- Walker, J.M. The Protein Protocols Handbook, 2ª ed. Humana Press, 2002.
- Westermeier, R. Electrophoresis in practice: A guide to methods and aplicaciones of DNA and protein separations, 4ª ed. John Wiley & sons, 2005.

Metodología:

- En la parte teórica se emplea la lección magistral participativa, utilizando proyecciones con cañón para ilustrar los distintos conceptos.
- En la parte práctica, los alumnos disponen de un Guión de Prácticas con los protocolos detallados de los procedimientos que van a emplear y las precauciones que deben adoptarse. Los alumnos en equipos de 2 o 3 personas realizan los diversos procedimientos electroforéticos siguiendo en cada paso las indicaciones del profesor. Los alumnos discuten con el profesor la información obtenida sobre las muestras analizadas y las posibles aplicaciones de cada técnica.
- Para su trabajo “no presencial” los alumnos cuentan con la tutorización de los profesores.

Criterios de evaluación:

- Asistencia a las sesiones teóricas y prácticas. Dado el carácter práctico del curso, la asistencia a las sesiones es obligatoria.
- Realización adecuada de los procedimientos experimentales.
- Expresión y discusión de los resultados durante las prácticas.
- Realización de una memoria y de un trabajo escrito.
- Resultados de la prueba escrita.