

ASIGNATURAS

DEL MÁSTER OFICIAL

**BIOLOGÍA MOLECULAR
Y BIOTECNOLOGÍA**

curso 2009-2010

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular A
Departamento de Genética y Microbiología

Facultad de Biología – Universidad de Murcia

(<http://www.um.es/biomybiotec>)

SEMINARIOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA

(Asignatura Obligatoria)

Profesorado:

Francisco Fernández Belda (fbelda@um.es, 868 88 4763) (Profesor Responsable)

Francisco J. Murillo Araujo (araujo@um.es, 868 88 4951)

Antonio Sánchez Amat (antonio@um.es, 868 88 4955)

Créditos y distribución: 6 créditos ECTS (150 horas)

horas teóricas: 24

horas prácticas: 18

horas de trabajo personal: 108

Objetivos pedagógicos:

El objetivo fundamental es que los alumnos entren en contacto directo con investigaciones (e investigadores) relevantes de nuestro país. Conocer los temas que despiertan la curiosidad de otros grupos, su interés básico y/o aplicado, cómo formulan otros investigadores sus preguntas concretas, qué estrategias metodológicas y experimentales utilizan, etc., resulta, sin duda, una experiencia extraordinariamente enriquecedora. Por otro lado, conocer las investigaciones que se llevan a cabo en otros centros del país (y de sus protagonistas) forma parte de la “cultura” obligada de todo investigador. Facilitar el contacto personal de los alumnos con investigadores de prestigio no es un objetivo menor de este curso.

Programa Teórico:

El curso consta de conferencias impartidas por profesores e investigadores de instituciones (universidades, centros del CSIC y otros centros de investigación) ajenas a la propia Universidad de Murcia. Se trata, pues, de un curso de programa abierto. La labor de los profesores implicados en este curso, pertenecientes a las áreas relacionadas con el programa (Bioquímica y Biología Molecular, Genética y Microbiología), es la de seleccionar a invitados de reconocido prestigio en cada área, hacer la invitación correspondiente y organizar su presencia en Murcia. En ocasiones, algún profesor del curso o algún otro profesor de la Universidad de Murcia imparten una de las conferencias. En cada curso académico hay un profesor responsable de la coordinación general del curso además de un responsable de cada una de las áreas implicadas.

Programa Práctico:

Tras la conferencia del investigador invitado, que es abierta a toda la comunidad universitaria, los alumnos mantienen una sesión con el investigador para tratar sobre el tema expuesto. Ahí tienen la ocasión de establecer un contacto más estrecho y personal con el invitado, lo que les permitirá resolver posibles dudas y comentar aspectos de la investigación que puedan ser de especial interés. Los alumnos disponen con la antelación suficiente, de bibliografía adecuada para poder participar en las sesiones de discusión (ver apartados siguientes).

Trabajo Personal del Alumno:

Los alumnos deben estudiar antes de cada seminario la bibliografía que aporta el conferenciante con el fin de facilitar su intervención en las sesiones de discusión. Además,

deben presentar un pequeño resumen de cada una de las conferencias.

Bibliografía:

Revisiones y artículos recomendados por los conferenciantes invitados, publicados normalmente en revistas de prestigio internacional.

Metodología:

En cada sesión interviene un invitado que realiza una presentación de unos 60-90 minutos. Para facilitar la participación del alumno se pide al conferenciante invitado que envíe con suficiente antelación algunas referencias, tipo revisión, sobre el tema y que dedique una primera parte a una introducción general (fenómeno a tratar, su interés básico o aplicado, antecedentes derivados de investigaciones propias o ajenas, etc.). A continuación realiza la presentación y discusión detallada de sus investigaciones más recientes. Tras la exposición y debate con el público general asistente, el conferenciante se reúne con los alumnos para resolver las posibles dudas que se hayan podido plantear, comentar técnicas o métodos de análisis específicos o discutir aspectos concretos que puedan ser de especial relevancia o interés. Las conferencias se anuncian oportunamente y están abiertas a todos los miembros de las universidades y centros de investigación de Murcia, aunque haciendo constar que se trata de una actividad dirigida a alumnos de un Máster. La asistencia regular de los profesores del programa y de otros profesores e investigadores genera un clima de mayor atención y eleva el nivel de discusión.

Criterios de evaluación:

Obtener una evaluación positiva requiere la asistencia a todas las conferencias (salvo causa justificada) y la entrega al final del curso de un pequeño resumen (1-2 páginas) de cada una de las conferencias a las que se ha asistido. La calidad de estos resúmenes condiciona la calificación del alumno.

PROGRAMA DE POSTGRADO “BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA”

CURSO “INTRODUCCIÓN A LA BIOINFORMÁTICA”

Profesorado:

Jesualdo Tomás Fernández Breis (jfernand@um.es; 868-884613) (Prof. responsable)
Rafael Valencia García (valencia@um.es; 868-888522)

Créditos y distribución: 6 créditos ECTS (150 horas)

20 horas teóricas 40 horas prácticas 90 horas de trabajo personal

Objetivos pedagógicos:

- Obtener de los recursos bioinformáticos existentes en Internet la información necesaria para la labor profesional
- Trabajar adecuadamente con las tecnologías de la información para procesar información biológica
- Seleccionar las herramientas bioinformáticas más adecuadas para realizar un determinado procesamiento de información biológica
- Representar adecuadamente información y conocimiento biológico
- Trabajar en equipo

Programa Teórico:

1. Conceptos fundamentales de la bioinformática
 - 1.1. Origen de la bioinformática
 - 1.2. Enfoques computacionales al problema biológico
 - 1.3. Fuentes de información para bioinformática
 - 1.4. Panorama actual en bioinformática
2. Aspectos computacionales básicos
 - 2.1. Sistemas Operativos
 - 2.2. Bases de datos
 - 2.3. Programación
3. Bases de datos biológicas
 - 3.1. Introducción
 - 3.2. Uso de bases de datos biológicas
 - 3.3. Bases de datos genéricas
 - 3.4. Bases de datos secundarias
4. Ontologías biológicas
 - 4.1. Importancia de la semántica en biología
 - 4.2. Fundamentos de ontologías biológicas
 - 4.3. Usos de las ontologías biológicas
5. Métodos y algoritmos informáticos para el procesamiento de información biológica
 - 5.1. Análisis, comparación y alineamiento de secuencias
 - 5.2. Clasificación y visualización de estructuras de proteínas
 - 5.3. Predicción de estructuras de proteínas y sus funciones
 - 5.4. Tecnología de microarrays

Programa Práctico:

Práctica 1: Explotación de bases de datos biológicas

Práctica 2: Uso de ontologías biológicas

Práctica 3: Uso de herramientas para procesamiento de información biológica

Práctica 4: Construcción y uso de bases de datos

Trabajo Personal del Alumno:

Los alumnos deberán realizar las siguientes tareas complementarias y adicionales a las horas presenciales:

- Comprensión y estudio de la materia tratada en las sesiones teórico-prácticas.
- Lectura crítica de artículos relevantes sobre los aspectos tratados en las sesiones presenciales teórico-prácticas.
- Trabajos teórico-prácticos concretos sobre los aspectos tratados en las sesiones presenciales teórico-prácticas.

Bibliografía:

- Bioinformatics for geneticists: a bioinformatics primer for the analysis of genetic data / [edited by] Michael R. Barnes.. -- 2nd ed.. -- Chichester, England ; Hoboken, NJ : Wiley, 2008
- Introduction to bioinformatics / Arthur M. Lesk.. -- 3rd. ed.. -- Oxford ; New York : Oxford University Press, 2008
- An introduction to bioinformatics algorithms / Neil C. Jones and Pavel A. Pevzner.. -- Cambridge : MIT Press, 2004.
- Structural bioinformatics / edited by Philippe E. Bourne, Helge Weissig. -- New Jersey : Wiley-Liss, 2003
- Beginning Perl for bioinformatics / James D. Tisdall. -- Beijing [etc.] : O'Reilly, 2001
- Developing Bioinformatics Computer Skills / Gibas, C., Jambeck, P., O'Reilly, 2001
- Bioinformatics: A Practical Guide to the Anayisis of Genes and Proteins. / Baxevanis, A., Ouellette, F. Wiley-Interscience, 2004

Metodología:

- En las sesiones teóricas se explicarán los aspectos del programa teórico, así como se realizarán exposiciones, discusiones y debates moderados por los profesores relacionados con los artículos propuestos para la lectura y temas de actualidad en el campo de la bioinformática.
- En las sesiones prácticas se explicarán los aspectos del programa práctico y los alumnos resolverán algunos ejercicios propuestos guiados por los profesores.

Criterios de evaluación:

- Se evaluará mediante la realización de un trabajo teórico/práctico propuestos por los profesores del curso individual o en grupos de 2 personas
- Se valorará asimismo el seguimiento de la asignatura realizado por el alumno (asistencia, entrega de ejercicios propuestos, participación en debates y discusiones, exposiciones, etc).

**CURSO “BIOMEMBRANAS: ESTRUCTURA, APLICACIONES Y SEÑALIZACIÓN
CELULAR. BIOTECNOLOGÍA DE TENSIOACTIVOS BIOLÓGICOS”**

Profesorado:

Francisco José Aranda Martínez (fjam@um.es; 968-364760) (Prof. responsable)

Juan Carmelo Gómez Fernández (jcgomez@um.es; 968-364866)

Antonio Ortiz López (ortizbq@um.es; 968-364788)

María Senena Corbalán García (senena@um.es; 968-364775)

Créditos y distribución: 6 créditos ECTS (150 horas)

37 horas teóricas 17 horas prácticas 96 horas de trabajo personal

Objetivos pedagógicos:

- Comprender los fundamentos teóricos y experimentales de la estructura y función de las biomembranas y sus aplicaciones.
- Conocer la clasificación y bases moleculares de funcionamiento de los principales transductores de señales relacionados con las membranas biológicas. Comprender como se produce la diversidad de transductores de señales y sus distintas regulaciones a partir de combinaciones distintas de moléculas proteicas con los lípidos de las membranas.
- Establecer las bases estructurales y funcionales de los procesos de fusión de membranas. Conocer los modelos más actualizados que explican estos procesos de fusión de membranas en sistemas biológicos, así como algunas de las aproximaciones experimentales para su estudio.
- Estudio de los procedimientos experimentales para la producción de tensioactivos biológicos y de sus principales características físico-químicos, bioquímicas y biológicas. Repasar las principales aplicaciones de índole biotecnológica de este tipo de compuestos.

Programa Teórico:

1. Estructura de las Biomembranas. Perspectiva histórica. Microscopía electrónica de biomembranas. Composición comparada de diversos tipos de biomembranas.
2. Los lípidos de las biomembranas. Descripción de estructuras y propiedades físicoquímicas. Fases líquido-cristalinas. Membranas lipídicas modelo: liposomas. Tipos. Preparación. Caracterización de tamaños y volumen encapsulado.
3. Caracterización física de las dispersiones lipídicas. Diagramas de fases. Calorimetría diferencial de barrido, microscopía electrónica de criofractura, dispersión de rayos X, espectroscopia de RMN de ^{31}P y de ^2H , espectroscopía de infrarrojo, espectroscopía de fluorescencia.
4. Propiedades polimórficas de fase de especies lipídicas individuales y de mezclas lipídicas. Partículas lipídicas. Polimorfismo lipídico y las propiedades de forma de los lípidos. Compartimentación en una membrana continua. Relación con las membranas biológicas. Polimorfismo lipídico y propiedades de la membrana. Péptidos y polimorfismo lipídico. Modulación de la función de las proteínas por los lípidos. Modelo del mosaico metamórfico.
5. Fusión de membranas en sistema modelo. Técnicas experimentales para el estudio de la fusión de membranas en sistemas modelo. Visión general del modelo vigente para explicar el mecanismo de estos procesos.
6. Fusión de membranas biológicas. Fusión de membranas en virus con envuelta. Fusión intracelular de membranas. Exocitosis.
7. Estructura y función de las balsas lipídicas (rafts). Bases físico químicas. Metodos de estudio. Manipulación de los componentes. Visualización en membranas modelo. Biogénesis y tamaño. Nomenclatura. Función.
8. Aplicaciones de los liposomas: membranas modelo, vehículos de fármacos, cosmética, vehículos de genes, sangre artificial. Asimetría de las biomembranas. Aplicaciones a los biomateriales. Biocompatibilidad.
9. Proteínas de biomembranas. Tipos. Modos de estudio de las proteínas de biomembranas. Movilidad. Fotoblanqueo y recuperación de fluorescencia. Morfologías más comunes de proteínas intrínsecas de biomembranas. Estudio de algunos ejemplos.
10. Interacción lípido-proteína intrínseca de biomembrana. Reconstitución de proteínas. Técnicas biofísicas utilizadas. Estudios de monocapas lipídicas en la interfase agua-

aire. Aplicación al estudio de la interacción lípido-proteína. Películas de Langmuir-Blodgett. Aplicaciones en Biotecnología y Biomateriales.

11. Estudio del mecanismo de interacción con la membrana de los distintos dominios proteicos implicados en la señalización celular. Dominios C1, C2, PH, PX, FYVE, ENTH, ANTH, Tubby y FERM.

12. Estudio de la estructura y función de proteínas periféricas de membrana implicadas en señalización celular. Casos concretos de familias proteicas: Proteínas Quinasas C y D; Fosfolipasas C y D; Proteínas quinasas involucradas en el metabolismo de los fosfatidilinositoles; Fosfatasa de lípidos; diacilglicerol quinasas; Factores intercambiadores de nucleótidos de pequeñas GTPasas (GEFs); Proteínas activadoras de GTPasas (GAPs).

13. Tensioactivos y fenómenos de superficie. Propiedades fisicoquímicas de los tensioactivos de aplicación al estudio de las membranas. Calorimetría Isotérmica de Titulación (ITC) para la determinación del coeficiente de reparto y la solubilización de membranas por tensioactivos.

14. Tensioactivos biológicos. Mecanismos biosintéticos de compuestos de peso molecular bajo. Genética de compuestos con actividad superficial. Producción de tensioactivos biológicos. Actividades biológicas. Biofísica de los tensioactivos microbianos. Aplicaciones biotecnológicas

Programa Práctico:

1. Preparación de liposomas y medida de su capacidad de encapsulación.
2. Representación gráfica mediante programas de ordenador de dominios proteicos implicados en señalización a través de membranas.
3. Estudio mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) de la transición de fase de gel a cristal líquido en sistemas de fosfatidilcolina. Efecto de la longitud de la cadena hidrocarbonada y del colesterol.
4. Estudio de la agregación de vesículas unilamelares pequeñas (SUV) de fosfatidilserina por cationes divalentes (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+})
5. Determinación de la concentración micelar crítica (CMC) de tensioactivos catiónicos.

Trabajo Personal del Alumno:

Búsqueda bibliográfica, preparación de un seminario de investigación relacionado con el tema del curso, estudio y comprensión de la materia correspondiente al programa.

Bibliografía:

- Lipid-protein interactions in biological membranes: a structural perspective (2003) A.G. Lee, *Biochim. Biophys. Acta* 1612, 1-40.
- Phospholipid bilayers, *Physical Principles and Models*, G. Cevc y D. Marsh. Wiley Interscience, 1990.
- Lipids, molecular organization, physical functions and technical applications (1994) K. Larson, The Oily Press.
- Lipid rafts: elusive or illusive? (2003) *Cell* 115, 377-388.
- Membrane Fluidity in Biology, R.C. Aloia ed. Academic Press, 1983.
- Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes, D.E. Vance y J. Vance eds. Elsevier, 1991.
- Membrane Fusion J. Wilschut y D. Hoekstra eds. Marcel Dekker, 1991.
- Solubilization of membranas by detergents (1975) A. Helenius y K. Simons, *Biochim. Biophys. Acta* 415, 29-79.
- Biosurfactants. Production, properties and applications, N. Kosaric ed., Maecel Dekker, 1993.
- Regulation of the ABC kinases by phosphorylation: PKC as a paradigm (2003) A.C. Newton, *Biochem. J.* 370, 361-371.
- Fluorescence resonance energy transfer (FRET) microscopy imaging of live cell protein localizations (2003) Sekar, R.B., Periasamy, A. *J. Cell Biol.* 160, 629-33.
- Ca²⁺ bridges the C2 membrane-binding domain of PKCa directly to phosphatidylserine (1999) Verdager, N., Corbalan-Garcia, S., Ochoa, W.F., Fita, I. and Gomez-Fernandez, J.C. *EMBO J.* 18, 6329-6338.
- Phosphoinositide Recognition Domains (2003) Lemmon, M.A. *Traffic* 4, 201-213.
- Membrane-protein interactions in cell signaling and membrane trafficking (2005) Cho, W. and Stahelin, R.V. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 34, 119-51.

Metodología:

1. Lección magistral participativa.
2. Discusiones en grupo.
3. Estudios bibliográficos sobre tema monográficos para cada alumno.
4. Exposición en seminario de los temas monográficos preparados por cada alumno.

Criterios de evaluación:

- Se tendrá en cuenta el trabajo bibliográfico realizado, la preparación y exposición de un seminario de investigación relacionado con la materia. La asistencia a las clases y una prueba de evaluación final en la que los alumnos habrán de contestar durante 60 minutos a un tema que se les propondrá, escogido del programa.

PROGRAMA DE POSTGRADO “BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA” **CURSO “Biotransformaciones”**

Profesorado:

Dr. Francisco García Carmona (gcarmona@um.es; 868884765) (Prof. responsable)

Dr. Álvaro Sánchez Ferrer (alvaro@um.es; 868884770)

Dra. Manuela Pérez Gilabert (mpg@um.es; 868884786)

D. José Manuel López Nicolás (josemIn@um.es; 868884786)

Créditos y distribución: 6 créditos ECTS (150 horas)

20 horas teóricas

30 horas prácticas

100 horas de trabajo personal

Objetivos pedagógicos:

1. *Objetivos informativos:*

Con este curso se pretende que el alumno de tercer ciclo adquiera una serie de conocimientos que le permitan entender las implicaciones singulares que deben cumplir los catalizadores biológicos cuando se usan industrialmente para catalizar una reacción de interés económico. Entre estas singularidades están el grado y metodología de purificación, la estabilidad operacional, los medios de reacción no convencionales etc.

2. *Objetivos formativos:*

Con la parte experimental de este curso se pretende que los alumnos apliquen en el laboratorio parte de los conocimientos aprendidos en la clase teórica de manera que la información sea asimilada de una forma más profunda y duradera. Al mismo tiempo se pretende que el alumno se habitúe al manejo de equipos como tales como fermentadores, espectrofotómetros, FPLC, HPLC y adquiera la destreza manual necesaria para llevar a cabo por sí mismo cultivos de microorganismo, purificación de enzimas y caracterización de distintos procesos de biotransformación.

Como se expone en el apartado de metodología, con este curso también se pretende que los alumnos se familiaricen con la búsqueda de información, con la discusión de trabajos científicos y con la presentación de resultados experimentales.

Programa Teórico:

1. Introducción
2. Empleo de enzimas y microorganismos como catalizadores biológicos.
3. Sistemas de obtención y purificación de enzimas a escala industrial.
4. Empleo de separaciones de fases acuosas.
5. Interacción con colorantes textiles.
6. Aplicaciones prácticas en procesos industriales de enzimas.
7. Inmovilización de enzimas y microorganismos.

Programa Práctico:

1. Obtención de biocatalizadores de interés industrial: lipoxigenasa
2. Inmovilización de biocatalizadores en distintos soportes.
3. Caracterización de las biotransformaciones: análisis de productos.

Trabajo Personal del Alumno:

- El trabajo personal de cada alumno será el análisis bibliográfico de una biotransformación industrial, libremente elegido por el alumno, este trabajo deberá incluir aspectos de la incidencia industrial de la biotransformación estudiada en comparación con las alternativas químicas del proceso. Este trabajo será presentado oralmente en una sesión de seminario.

Por otro lado el alumno deberá entregar una memoria de las practicas realizadas con los resultados obtenidos e interpretados

Bibliografía:

- Bommarius, A.S., Riebel B. R. Biocatalysis. Fundamentals and Applications, Wiley-VCH, Weinheim. (2004).
- Aehle, W. Enzymes in industry. Wiley-VCH, Weinheim. (2004).
- Jördening, H.J. Winter, J. Environmental Biotechnology Wiley-VCH, Weinheim. (2005).
- Buchholz, K. Kasche, V. Bornscheuer, U.T. Biocatalysts and Enzyme Technology. Wiley-VCH, Weinheim. (2005).
- Godfrey, T. y West, S. Industrial enzymology, McMillan, Londres (1996).
- Fogarty, W.M. y Kelly, C.T. Microbial enzymes and biotechnology. Chapman y Hall, Londres (1990).
- Liese,A. Industrial Biotransformations, 2nd edn. Wiley-VCH, Weinheim.(2005).
- Bickerstaff, G. Immobilization of enzymes and cells. Humana Press, Londres (1997).
- Roe, S. Protein purification techniques. Practical approach. Oxford University Press (2001).
- Pérez-Gilabert, M., López-Nicolás, J.M., García-Carmona, F. Purification of a novel lipoxygenase from Solanum melongena fruit chloroplasts. *Physiol. Plant.* 111: 276-82 (2001).
- Streitenberger, S.A., Lopez-Más, J.A., Sánchez-Ferrer, A., García-Carmona F. Use of dye affinity chromatography for the purification of *Aerococcus viridans* lactate oxidase. *Biotechnol Prog.* 18(3):657-9 (2002).
- Streitenberger, S.A., Villaverde, M.J., Sánchez-Ferrer, A., García-Carmona F. Microencapsulation of *Aerococcus viridans* with catalase and its application for the síntesis of dihydroxyacetone phosphate. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 58(1): 73-6 (2002).
- Pérez Gilabert, M., García Carmona, F. Chromatographic análisis of lipoxygenase products. *Anal Chim Acta* 465: 319-35 (2002).

Metodología:

1. Para el programa teórico:

Una parte de la información teórica será presentada de manera expositiva por el profesor. Por otra parte los alumnos tendrán que preparar y exponer un seminario sobre un tema relacionado con el programa del curso.

2. Para el programa de prácticas:

El alumno realizará las prácticas mencionadas bajo la supervisión de un profesor. Al final del curso deberá presentar una memoria en la que se describan los materiales y métodos empleados y se expongan los resultados obtenidos.

Criterios de evaluación:

- En la calificación final de este curso de doctorado se tendrá en cuenta la **asistencia** del alumno, su **actitud** en el laboratorio (preparación previa, interés, capacidad, destreza...), la presentación de la **memoria de prácticas** (la forma en la que se presentan los resultados y la capacidad de análisis y de síntesis del alumno a la hora de discutir los resultados obtenidos), la presentación del **seminario** y la calificación obtenida en una **prueba escrita** en la que el alumno deberá demostrar que ha asimilado los conceptos básicos de este curso.

CULTIVO DE CÉLULAS Y TEJIDOS VEGETALES CON FINES BIOTECNOLÓGICOS

Profesorado:

Dra. M^a Angeles Pedreño (mpedreno@um.es; 968-367000) (Prof. responsable)

Dra. Laura Vanessa Gómez Ros (lauragr@um.es; 968-364904)

Créditos y distribución: 6 créditos ECTS (150 horas)

48 horas presenciales (15 teóricas, 25 horas prácticas, 8 horas de seminarios y tutorías)

102 horas de trabajo personal

Objetivos pedagógicos:

El objetivo principal del curso se centra en la adquisición de destrezas en las técnicas del cultivo *in vitro* de tejidos y órganos vegetales para la obtención de cultivos celulares con vistas a su utilización para la producción de metabolitos secundarios a gran escala y para la obtención de plantas transformadas. Por ello, se intentará promover el desarrollo de esta disciplina mediante el conocimiento de las técnicas de cultivo *in vitro* y las herramientas que nos proporciona la genética molecular.

Mediante el desarrollo de este objetivo se pretende que el alumno mejore la capacidad de describir e interpretar resultados experimentales, adquiera destrezas en la exposición oral de contenidos científicos y se familiarice con el uso de las bases de datos bibliográficos.

Programa Teórico:

- 1.- Aislamiento y cultivo de células a partir de diferentes materiales vegetales.
- 2.- Aislamiento y cultivo de protoplastos. Utilización de protoplastos con fines biotecnológicos.
- 3.- Producción de metabolitos secundarios en plantas. Detección y cuantificación de indolalcaloides y estilbenoides.
- 4.- Selección de líneas celulares productivas. Elicitación. Producción de metabolitos a gran escala. Biorreactores.

Programa Práctico:

- 1.- Iniciación y mantenimiento de suspensiones celulares a partir de tejidos y líneas callogénicas.
- 2.- Caracterización del crecimiento de las suspensiones celulares.
- 3.- Aislamiento y purificación de protoplastos obtenidos de suspensiones celulares y de tejido foliar.
- 4.- Fusión de protoplastos e hibridación somática.
- 5.- Producción de metabolitos secundarios mediante cultivo de células vegetales elicitadas.

Trabajo Personal del Alumno:

- 1.- Preparación de los seminarios de los temas seleccionados y de las prácticas realizadas.
- 2.- Búsquedas bibliográficas a través de la web.

Bibliografía:

- Transgenic Plants. Methods and Protocols. (Leandro Peña, Ed.) Humana Press. 2005.

- Avances recientes en Biotecnología Vegetal e Ingeniería Genética de Plantas. (Benítez Burraco, A., Ed.) Editorial Reverté. 2005.
- Plant Biotechnology. The genetic manipulation of plants. (Slater y cols., Eds.) Oxford University Press. 2003.
- Biotecnología aplicada a la Agricultura. (Sebito, Ed.) Colección Vida rural. 2000.
- Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. R. Verpoorte, A. Contin and J. Memelink. Phytochemistry Reviews 1: 13-25, 2002.
- Plant cell factories as a source for anti-cancer lignans. R.R.J. Arroo, A.W. Alfermann, M. Medarde, M. Petersen, N. Pras and J.G. Woolley. Phytochemistry reviews 1:27-35, 2002.
- Valuable Secondary Products from in vitro culture. M.A. Lila. Capítulo 24 Secondary Products in vitro. CRC Press LLC. 2005. pp 285-289.
- Molecular Aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. Vasconsuelo A., Boland R. Plant Science 172: 861-875. 2007.

Metodología:

- Clases de teoría con la lección magistral participativa que facilite el aprendizaje activo y cooperativo de los estudiantes.
- Clases prácticas de laboratorio tuteladas y planificadas para que enlacen con los conocimientos teóricos y fomenten la adquisición de ideas.
- Seminarios que incentiven el estudio por un mecanismo distinto al de preparación de un examen y que sirva de mecanismo para corregir errores y deficiencias en la adquisición de las materias objeto de estudio.
- Tutorías que individualicen y personalicen la enseñanza, ajustándola a las características personales de cada alumno.

Criterios de evaluación:

- Asistencia obligatoria.
- Exposición de los seminarios.
- Realización del resumen de las prácticas de laboratorio.

Máster en “*BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA*” (2009/2010)
Asignatura “*ENZIMOLOGÍA APLICADA*”

Profesorado: (<http://www.um.es/genz>)

- Dr. José Tudela Serrano, CU (tudelaj@um.es; 868884773) (Prof. responsable)
- Dr. Francisco García Cánovas, CU (canovaf@um.es; 868884764)
- Dr. José Neptuno Rodríguez López, TU (neptuno@um.es; 868888284)
- Tecnólogos de empresas invitadas (<http://www.artbiochem.com>, <http://proquiga.es>, <http://www.dsm.com>, <http://www.novozymes.com>).

Créditos y distribución: 6 créditos ECTS (150 horas)

horas teóricas: 30 horas prácticas: 15 horas de trabajo personal: 105

Objetivos pedagógicos:

- Comprensión de las principales características y propiedades biocatalíticas de las enzimas en medios homogéneos, heterogéneos y biorreactores enzimáticos, para sus aplicaciones biotecnológicas, considerando la posible heterogeneidad en la formación previa de alumnos procedentes de diferentes estudios de grado.
- Estudio de los últimos avances sobre las aplicaciones de las enzimas en las Biotecnologías Sanitaria (Roja), Agroalimentaria (Verde), Industrial (Blanca) y de Gestión (Gris).
- Análisis de los últimos descubrimientos acerca de las aplicaciones biotecnológicas de Polifenoloxidasas, Peroxidasas y Dihidrolfolatoreductasas, enzimas sobre las cuales posee amplia experiencia el GENZ.
- Conocimiento de las actividades de diversas empresas invitadas, sobre sus respectivas aplicaciones biotecnológicas de las enzimas, aspectos reales y prácticos de la producción y la gestión empresarial, evolución histórica, perspectivas futuras y la relevancia económica, en sus correspondientes Sectores Biotecnológicos (Rojo, Verde, Blanco y Gris).
- Práctica en el uso de la información científica y tecnológica, basada en el acceso telemático y la gestión ofimática de bibliografía, patentes, legislación y bases de datos.
- Profundización en la interpretación y descripción de resultados experimentales.
- Destreza en la comunicación multimedia de conocimientos científicos y tecnológicos.

Programa Teórico:

- **Introducción a la Enzimología Aplicada.** Enzimas y Sectores Biotecnológicos. Enzimas y biocatálisis: Producción, bioanálisis, biodegradación y síntesis. Producción y mejora biotecnológica de enzimas. Biocatálisis enzimática homogénea y heterogénea: Actividad, estabilidad, medios no acuosos, inmovilización, biorreactores y biosensores.
- **Enzimología Sanitaria (Roja).** Medicina: Enzimas como fármacos y objetivos moleculares. Veterinaria: Enzimas en sanidad y nutrición animal, ganadería y acuicultura. Farmacia: Enzimas en la extracción y síntesis estereoespecífica de nuevos fármacos, Modelado Molecular (*Molecular Modeling*) y Cribado de Alto Rendimiento (*High Throughput Screening*).
- **Enzimología Agroalimentaria (Verde).** Agricultura: Enzimas como objetivos moleculares en la mejora de cultivos agrarios (productividad, enfermedades, plaguicidas, etc.) y en biotecnologías posrecolección (atmósferas controladas y modificadas, etc.). Alimentación: Enzimas como biocatalizadores y objetivos moleculares, en la extracción, procesado y elaboración de alimentos, habituales y funcionales enriquecidos con nutraceuticos.
- **Enzimología Industrial (Blanca).** Energía: Enzimas en la extracción de petróleo y en la producción de biocombustibles renovables (bioetanol, biodiesel, biometano, etc.). Materiales: Enzimas en la producción de pasta, papel, corcho, polímeros inteligentes, polímeros con impresión molecular, plásticos biocatalíticos, etc. Textil: Enzimas en la elaboración de tejidos (algodón, lana, seda, cuero, etc.) y en la producción de detergentes (glucosidasas, lipasas, proteasas, etc.). Química: Enzimas en la síntesis de productos químicos, finales e intermedios, utilizados en múltiples sectores industriales.
- **Enzimología y Gestión Empresarial (Gris).** Conocimiento: Enzimas, propiedad industrial, patentes, legislación, nuevas empresas de base tecnológica, *spin off*. Seguridad: Enzimas, prevención, HACCP y HEDEG. Medioambiente: Enzimas, Normas ISO 14000, subproductos y contaminantes. Calidad: Enzimas, Normas ISO, GP, UNE y EN. Gestión integrada.
- **Enzimología Aplicada en Empresas Seleccionadas.** ARTBIOCHEM: Producción y aplicaciones de enzimas obtenidas de residuos agroindustriales. CAGLIO-STAR: Aplicaciones de las enzimas en la elaboración de productos lácteos. DSM-DERETIL:

Aplicaciones de las enzimas en química fina y biodegradación de contaminantes. NOVOZYMES: Aplicaciones de las enzimas en empresas de los Sectores Biotecnológicos.

- **Enzimología Aplicada de Enzimas Seleccionadas.** Polifenoloxidasas: Antitumorales, despigmentantes, antiparodeantes, bioanálisis, biodegradación y síntesis de fenoles. Peroxidasas: Bioanálisis clínicos de metabolitos y fenoles, biodegradación y síntesis de fenoles y polímeros. Dihidrolfolatoredutasas: Cáncer, pteridinas, antitumorales y nutracéuticos.

Programa Práctico:

- **Mesas redondas.** Coloquios moderados por el profesor, acerca del contenido de cada Seminario, entre el ponente y los alumnos del curso.

Experimentos a realizar en los laboratorios y con la [instrumentación del GENZ](#).

- **Cromatografía.** HPLC ultrarrápida. Detección Multilongitud de onda y *Diode Array*. Factores de capacidad y resolución de columnas. Recogida de fracciones.

- **Espectrometría.** Modelado Molecular. Predicción e interpretación de espectros de ^1H y ^{13}C –NMR. Espectrometría de Masas: GC/MS y LC/MS.

- **Oximetría.** Detección amperométrica de oxígeno y electrodo de Clark. Registro, análisis, exportación e importación de datos. Análisis de regresión lineal.

- **Espectrofotometría.** Óptica de doble haz. Espectros y cinéticas. Adquisición, análisis, exportación e importación de datos. Análisis de regresión no lineal.

- **Espectrofluorimetría.** Fluorescencia, fosforescencia y luminiscencia. Espectros y cinéticas. Captación, análisis, exportación e importación de datos.

- **Automatización.** Absorción, emisión y reflexión de luz. *High Throughput Screening*. Espectrofotometría y espectrofluorimetría en microplacas: Lectura, análisis, exportación e importación de datos.

Trabajo Personal del Alumno:

- Preparación de las Mesas redondas sobre el conjunto de los Seminarios del curso.
- Elaboración de un informe escrito sobre los resultados de las Prácticas de laboratorio.
- Preparación de la prueba calificadora escrita sobre el contenido del curso.

Metodología:

- Conferencias impartidas por los profesores sobre los temas del Programa. Habitualmente, los temas se desarrollan en varias sesiones de 1 h de duración, seguidas de Mesas redondas con duración mínima de 15 minutos.

- Mesas redondas moderadas por el profesor, que incluyen preguntas y comentarios sobre el contenido de cada Seminario entre el ponente y los alumnos del curso.

- Clases prácticas de laboratorio, con introducción a las prestaciones de métodos instrumentales avanzados, usuales para la investigación en Enzimología Aplicada.

Criterios de evaluación:

- Control de la asistencia de los alumnos matriculados.
- Profundización y exposición sobre las cuestiones planteadas en las Mesas redondas.
- Informe escrito sobre los resultados obtenidos en las Prácticas de laboratorio.
- Prueba calificadora escrita acerca del contenido del curso.

Bibliografía:

- Ahle, W. (2004) *Enzymes in Industry*, Wiley-VCH.
- Bommaris, A.S. & Riebel, B.R. (2004) *Biocatalysis*, Wiley-VCH.
- Buchholz, K. (2005) *Biocatalysts and Enzyme Technology*, Wiley-VCH.
- Copeland, R.A. (2000). *Enzymes: A Practical Introduction to Structure, Mechanism and Data Analysis*, John Wiley & Sons.
- Kumar, A. & Garg, S. (2009) *Enzymes and Enzyme Technology*, Anshan.
- Liese, A. et al. (2004). *Industrial Biotransformations*, 2nd ed., Wiley-VCH.
- Pandey, A. (2006) *Enzyme Technology*, Springer.
- Smith, J.E. (2009) *Biotechnology*, 5th ed., Cambridge.
- Minirrevisiones, revisiones y artículos de investigación, actualizados sobre cada tema (<http://www.um.es/genz>).

PROGRAMA DE POSGRADO “BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA”
ASIGNATURA: “BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE LA RESPUESTA A ESTRÉS
EN MICROORGANISMOS”

Profesorado:

José Cansado Vizoso (jcansado@um.es; 868-884953) (Prof. responsable)
Mariano J. Gacto Fernández (maga@um.es; 868-887132)
Patricia Lucas Elío (patlucel@um.es; 868-88367138)
Antonio Sánchez Amat (antonio@um.es; 868-884955)
Teresa Soto Pino (teresaso@um.es; 868-884393)
Francisco Torrella Mateu (torrella@um.es; 868-887139)
Jerónima Vicente Soler (jerovic@um.es; 868-884952)

Créditos y distribución: 6 créditos ECTS (150 horas)

25 horas teóricas 25 horas prácticas 100 horas de trabajo personal

Objetivos pedagógicos:

1. Desarrollar y dinamizar la actitud crítica del alumno en temas científicos, favorecer el aprendizaje activo e inducir su capacidad expositiva.
2. Que el alumno pueda acceder autónomamente a la bibliografía científica relevante de la asignatura, entender y clasificar su contenido.
3. Que el alumno conozca los últimos avances en Biología Molecular y Celular de respuesta a estrés en microorganismos.
4. Que el alumno comprenda el fundamento y aplicación de técnicas de Biología Molecular y Celular utilizando como modelo microorganismos.

Programa Teórico: 25 horas

Consta de diez sesiones teóricas impartidas por el profesorado en las que se abordan aspectos específicos sobre la señalización molecular y celular en bacterias y levaduras y que coinciden con las líneas de trabajo de los grupos de investigación implicados. Las clases comprenden dos partes de setenta y cinco minutos cada una y treinta minutos de descanso entre ambas: una primera de exposición y una segunda de debate y discusión.

Temario (Entre paréntesis se indica el número de sesiones dedicadas a cada tema).

1. Mecanismos de adaptación a medios acuáticos en bacterias y transmisión de señales moleculares entre microorganismos (2).
2. Actividades polifenol oxidasas y síntesis de antimicrobianos en bacterias (2).
3. MAP Kinasas y respuestas celulares frente a situaciones de estrés ambiental en eucariotas simples, centrándose en los modelos de levaduras (3).
4. Solutos compatibles (trehalosa, glicerol) como metabolitos implicados en la protección microbiana frente a condiciones de estrés (2).
5. Modelos de regulación transcripcional en levaduras en respuesta a estrés (1).

Programa Práctico: 25 horas

Cada alumno imparte un seminario basándose en artículos científicos recientes y seleccionados a partir de una lista propuesta por los profesores y elaborada en función a su calidad, relevancia y relación con los temas impartidos en clase. El formato y duración de los seminarios es idéntico al de las sesiones teóricas.

También, se impartirán clases prácticas de laboratorio basadas en técnicas y métodos específicos de las distintas líneas de trabajo de los grupos de investigación implicados.

Trabajo Personal del Alumno:

El alumno debe dedicar su tiempo a la consulta bibliográfica, a la preparación del seminario que va a exponer y de un esquema del mismo que repartirá al resto de alumnos, así como a la elaboración de resúmenes de las clases teóricas, de las prácticas de laboratorio y seminarios del resto de compañeros.

Bibliografía:

- Buck, V., Quinn, J., Soto, T., Martin, H., Saldanha, J., Makino, K. Morgan, B.A. & Millar, J.B.A. (2001) Peroxide sensors for the fission yeast stress-activated mitogen-activated protein kinase pathway. *Mol. Biol. Cell* 12, 407-419.
- Derijard, B., Hibi, M., Wu, I.H., Barrett, T., Su, B., Deng, T., Karin, M. & Davis, R.J. (1994) JNK1: a protein kinase stimulated by UV light and Ha-Ras that binds and phosphorylates the c-Jun activation domain. *Cell* 76, 1025-1037.
- Funa, N., Funabashi, M., Ohnishi, Y. & Horinouchi, S. (2005) Biosynthesis of hexahydroxyperylenequinone melanin via oxidative aryl coupling by cytochrome P-450 in *Streptomyces griseus*. *J. Bacteriol.* 187: 8149-8155.
- Galcheva-Gargova, Z., Derijard, B., Wu, I.H. & Davis, R.J. (1994) An osmosensing signal transduction pathway in mammalian cells. *Science* 265, 806-808.
- Gupta, S., Campbell, D., Derijard, B. & Davis, R.J. (1995) Independent human MAP-kinase signal transduction pathways defined by MEK and MKK isoforms. *Science* 267, 389-393.
- Jurkevitch, E. 2007. Predatory Behaviors in Bacteria, Diversity and Transitions. *Microbe*, Vol 2, No 2: 67-73.
- Jurkevitch, E. (Ed). 2007. Predatory Prokaryotes - Biology, Ecology and Evolution. Microbiology Monographs 4 Series, 260 pp. Springer-Verlag.
- Lee, J.C, Laydon, J.T., McDonnell, P.C., Gallagher, T.F., Kumar, S., Green, D., McNulty, D., Blumenthal, M.J., Heys, J.R., Landwatter, S.W., Strickler, J.A., McLaughlin, M.M., Siemens, I.V., Fisher, S.M., Livi, G.P., White, J.R., Adams, J.L. & Young, P.R. (1994) A protein kinase involved in the regulation of inflammatory cytokine biosynthesis. *Nature* 372, 739-746.
- Livingstone, C., Patel, G. & Jones, N. (1995) ATF-2 contains a phosphorylation-dependent transcriptional activation domain. *EMBO J.* 14, 1785-1797.
- Martin, M.O. (2002) Predatory prokaryotes: An emerging research opportunity. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 4, 467-477.
- Nguyen, A.N. & Shiozaki, K. (1999) Heat-shock-induced activation of stress MAP kinase is regulated by threonine- and tyrosine-specific phosphatases. *Genes Dev.* 13, 1653-1663.
- Phadtare, S., Alsina, J. & Inouye, M. (1999) Cold-Shock response and cold-shock proteins. *Curr. Opin. Microbiol.* 2, 175-180.
- Raivio, T.L. & Thomas, S.J. (2001) Periplasmic stress and ECF sigma factors. *Ann.Rev.Microbiol.* 55, 591-624.
- Rendulic, S., Jagtap, P., Rosinus A., Eppinger, M., Baar, C., Lanz, Ch., Keller, H., Lambert, C., Evans, K.J., Goesmann, A., Meyer, F., Sockett, R.E. & Schuster, S.C. (2004) A predator unmasked: Life cycle of *Bdellovibrio bacteriovorus* from a genomic perspective. *Science*, 303, 689-692.
- Shiozaki, K. & Russell, P. (1995) Cell-cycle control linked to extracellular environment by MAP kinase pathway in fission yeast. *Nature* 378, 739-743.
- Shiozaki, K. & Russell, P. (1997) Stress-activated protein kinase pathway in cell cycle control of fission yeast. *Methods Enzymol.* 283, 503-520.
- Toone, W.M., Kuge, S., Samuels, S., Morgan, B.A., Toda, T. & Jones, N. (1998) Regulation of the fission yeast transcription factor Pap1 by oxidative stress: requirement for the nuclear export factor Crm1 (Exportin) and the stress-activated MAP kinase Sty1/Spc1. *Genes Dev.* 12, 1453-1463.
- Treisman, R. (1996) Regulation of transcription by MAP kinase cascades. *Curr. Opin. Cell Biol.* 8, 205-215.
- Walton F.J., Idnurm, A. & Heitman, J. (2005) Novel gene functions required for melanization of the human pathogen *Cryptococcus neoformans*. *Mol. Microbiol.* 57, 1381-1396.

- Waskiewicz, A.J. & Cooper, J.A. (1995) Mitogen and stress response pathways: MAP kinase cascades and phosphatase regulation in mammals and yeast. *Curr. Opin. Cell Biol.* 7, 798-805.
- Watanabe, Y. & Yamamoto, M. (1996) *Schizosaccharomyces pombe pcr1+* encodes a CREB/ATF protein involved in regulation of gene expression for sexual development. *Mol. Cell. Biol.* 16, 704-711.
- Wilkinson, M.G. & Millar, J.B.A. (1998) SAPKs and transcription factors do the nucleocytoplasmic tango. *Genes Dev.* 12, 1391-1397.

Metodología:

Para el programa teórico:

La lección magistral participativa permitirá detectar el grado de comprensión de los temas por parte del alumno y facilitará su posterior evaluación. Para dicho fin el alumno dispondrá días antes de un esquema del tema y de la bibliografía empleada para la elaboración de la clase.

Para el programa práctico:

Los profesores ayudarán en la consulta y selección de los artículos científicos que cada alumno empleará en la exposición de su seminario y moderarán la posterior discusión en grupo. Para las prácticas de laboratorio, al alumno se le facilitará protocolos explicativos de las técnicas que se desarrollen y paralelamente el profesor se encargará de transmitir el fundamento y aplicación de dichas técnicas.

Criterios de evaluación:

- Asistencia continuada y participación en las sesiones teóricas y prácticas.
- Calidad en la presentación y exposición oral del seminario.
- Correcta elaboración de resúmenes (1-2 páginas) de los temas, seminarios impartidos y prácticas realizadas.
- Discusión de los resultados presentados en los seminarios y capacidad de comprensión analítica y sintética evidenciada en los coloquios respectivos.

PROGRAMA DE POSTGRADO “BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA”
CURSO “GENÉTICA MOLECULAR”

Profesorado:

Santiago Torres Martínez (storres@um.es; 868-887133) (Prof. Responsable)
Montserrat Elías Arnanz (melias@um.es; 868-887134)
Rosa M. Ruiz Vázquez (rmruiz@um.es; 868-887136)
Eusebio Navarro Ros (sebi@um.es; 868-887135)
Carmen Polanco de la Puente (mpolanco@um.es; 868-888175)
Maria Luisa Galbis Martínez (mgalbis@um.es; 868-887130)

Créditos y distribución: 6 créditos ECTS (150 horas)

Horas teóricas: 20 Horas prácticas: 30 Horas de trabajo personal: 100

Objetivos pedagógicos:

Los objetivos que se persiguen con este curso son cinco:

1. Que el alumno conozca los últimos avances en Genética Molecular.
2. Que el alumno adquiera los hábitos intelectuales necesarios para analizar de forma crítica los descubrimientos que va a encontrar en las publicaciones científicas.
3. Que el alumno se familiarice con la presentación y discusión de trabajos científicos
4. Que el alumno se familiarice con el uso de las bases de datos bibliográficos
5. Que el alumno se familiarice con las técnicas utilizadas en Genética Molecular, tanto a nivel teórico como práctico.

Programa Teórico:

El programa está totalmente abierto y se modela de acuerdo con los descubrimientos más relevantes que se vayan produciendo en cualquiera de los campos de la Genética. El programa teórico se estructura en 15 seminarios, cada uno con una duración total aproximada de 80-90 minutos, que se desarrollarán semanalmente a lo largo del primer cuatrimestre. En estos seminarios los profesores e investigadores a su cargo, presentan y discuten artículos científicos publicados recientemente y de especial relevancia en Genética. Previamente, se realiza una introducción detallada del tema y se explica a los alumnos los métodos y técnicas utilizados en el trabajo científico que se presentará a continuación. Para facilitar la comprensión del seminario, los alumnos dispondrán en la aplicación informática SUMA, con antelación suficiente, de una copia del artículo que se discutirá cada semana.

Algunos de los temas tratados en ediciones anteriores de este curso fueron:

- Interacciones bacterias patogénicas-plantas hospedadoras
- Genómica comparativa
- Rutas genéticas que regulan el envejecimiento.
- Regulación por la luz del desarrollo en plantas
- Inactivación y reactivación del cromosoma X
- Papel de los micro RNAs en el desarrollo canceroso y la metástasis
- Uso de la interferencia de RNA en genómica funcional.
- Regulación de la expresión génica por cambio programado del marco de lectura durante la traducción.
- MicroRNAs y regulación de la expresión génica.
- Control genético de la vernalización en *Arabidopsis thaliana*.
- Herencia no mendeliana en *Arabidopsis thaliana*.
- Control del ciclo celular en bacterias.
- Mecanismos de control de la calidad del mRNA.
- Mecanismos de comunicación en bacterias.
- Determinación sexual en *Caenorhabditis elegans*.
- Impronta genómica.
- Genética del sistema olfatorio.
- Terapia génica por siRNAs.

- Control de la comunicación celular y los destinos celulares.
- Asimetría derecha-izquierda en el desarrollo embrionario.
- Genética de los desórdenes del sueño.
- Enfermedades debidas a la expansión de repeticiones de trinucleótidos.
- Canibalismo en bacterias.
- Control genético del comportamiento sexual en *Drosophila*.
- Inducción de células madre pluripotentes a partir de fibroblastos humanos.
- Inactivación y reactivación del cromosoma X.
- Transplante de genomas en bacterias: hacia la síntesis de la célula mínima.
- Muerte celular programada en bacterias.
- Métodos de secuenciación de nueva generación.
- Regulación de la floración en plantas.
- Nuevos mecanismos de regulación del procesamiento del RNA.

Programa Práctico:

- . Trabajo práctico de laboratorio. Los alumnos realizarán dos prácticas de laboratorio:
 - . En la primera se analizará el funcionamiento y utilidad del sistema de doble híbrido bacteriano.
 - . En la segunda, se analizará el funcionamiento y utilidad de la técnica de retraso en gel.

Trabajo Personal del Alumno:

1. El alumno deberá preparar y entregar un resumen escrito de ocho de los seminarios que se imparten en el programa teórico, que en su momento se indicarán. El resumen no podrá sobrepasar la extensión de dos páginas a una sola cara. En dicho resumen el alumno deberá sintetizar los aspectos más relevantes del seminario. Para ayudarles en esta labor, se pondrá a su disposición en la aplicación informática SUMA, la presentación en *power point* utilizada por los profesores en su seminario. Para el resto de seminarios, al finalizar éstos se realizará una breve evaluación, orientada básicamente a constatar el grado de atención del alumno.
2. El alumno deberá analizar, interpretar y presentar un resumen de los resultados obtenidos en las prácticas de laboratorio

Bibliografía:

Como se ha mencionado, la asignatura se estructura en seminarios abiertos en los que se discuten los descubrimientos más relevantes en el campo de la Genética Molecular, publicados recientemente en revistas del nivel de Nature, Science, PNAS, Cell, EMBO Journal, Genes and Development, Molecular Microbiology, etc. El objetivo de mantener una lista abierta de seminarios es proporcionar la flexibilidad suficiente para poder incorporar a la lista cualquier descubrimiento reciente en el campo de la Genética Molecular, que los profesores consideren de suficiente relevancia. Por lo tanto, es imposible prever la bibliografía que se utilizará en este curso. A modo de ejemplo, se indican a continuación los temas tratados en los distintos seminarios impartidos en el curso 2008-2009, incluyendo los artículos principales de cada seminario, así como un ejemplo de la bibliografía utilizada para la preparación de un seminario concreto, bibliografía que se proporciona a los alumnos de la asignatura con una semana de antelación.

Bibliografía principal del curso 2007-2008:

1. Priones de hongos:

Newly identified prion linked to the chromatin remodelling factor Sw1 in *Saccharomyces cerevisiae*
Du et al.

Nature Genetics, (2008) Vol.40 pp. 460-465.

2. Papel de las enzimas activadoras de ubiquitina (E1) en el desarrollo

E1 Ubiquitin-activating enzyme UBA-1 plays multiple roles throughout *C. elegans* development
Kulkarni & Smith
PLoS Genetics, (2008) Vol. 4

3. *Función de los siRNA endógenos en animales*
Pseudogene-derived small interfering RNAs regulate gene expression in mouse oocytes
Tam et al.
Nature, (2008) Vol. 453 pp. 534-538.
4. *Regulación epigenética de la expresión génica: el papel de la desmetilación del DNA*
ROS3 is a RNA-binding protein required for DNA demethylation in *Arabidopsis*
Zheng et al.
Nature, (2008) Vol. 455 pp. 1259-1263.
5. *Papel de las hormonas en la ramificación de las plantas*
Strigolactone inhibition of shoot branching
Gómez-Roldán et al.
Nature, (2008) Vol. 455 pp. 189-194.
6. *Métodos de secuenciación de nueva generación*
The impact of next-generation sequencing technology on genetics
Mardis.
Trends Genet, (2008) Vol.24 pp. 133-141.
7. *Nuevos mecanismos de regulación del procesamiento de RNA*
Promoter-driving splicing regulation in fission yeast
Moldón et al.
Nature, (2008) Vol. 455 pp. 997-1000.
8. *Rutas de degradación de proteínas en bacterias*
Ubiquitin-like protein involved in the proteasome pathway of *Mycobacterium tuberculosis*
Gygi et al.
Science, (2008) Vol. 322 pp. 1104- 1107.
9. *Regulación de la floración en plantas*
Flowering-time genes modulate meristem determinacy and growth form in *Arabidopsis thaliana*
Melzer et al.
Nat Genet, (2008) Vol. 40 pp. 1489-1492.
10. *Megarestrictasas*
Increasing cloning possibilities using artificial zinc finger nucleases
Zeevi et al.
Proc Nat Acad Sci USA, (2008) Vol. 105 pp. 12785-12790.
11. *Envejecimiento en levaduras*
A mechanism for asymmetric segregation of age during yeast budding
Shcheprova et al.
Nature, (2008) Vol. 454 pp. 728-734.
12. *Reprogramación nuclear*
In vivo reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to β -cells
Zhou et al.
Nature, (2008) Vol. 455 pp. 627-632.
13. *Especificidad de acción de las retrotranscriptasas*
Dynamic binding orientations direct activity of HIV reverse transcriptase
Abbondanzieri et al.
Nature, (2008) Vol. 453 pp. 184-189.
14. *Proteínas virales que mimetizan complejos de traducción eucarióticos*
A protein that replaces the entire cellular eIF4F complex
Mir & Panganiban

EMBO J, (2008) Vol. 27 pp. 3129-3139.

Bibliografía de un seminario concreto: “Función de los siRNA endógenos en animales”

Artículos:

Pseudogene-derived small interfering RNAs regulate gene expression in mouse oocytes
Tam et al.
Nature (2008) Vol. 453 pp. 534-538.

Endogenous siRNAs from naturally formed dsRNAs regulate transcripts in mouse oocytes
Watanabe et al.
Nature (2008) Vol 453 pp. 539-544

Drosophila endogenous small RNAs bind to Argonaute 2 in somatic cells
Kawamura et al.
Nature (2008) vol 453 pp. 793-798

An endogenous small interfering RNA pathway in Drosophila
Czech et al.
Nature (2008) vol 453 pp. 798-803

The Drosophila hairpin RNA pathway generates endogenous short interfering RNAs
Okamura et al.
Nature (2008) vol 453 pp. 803-807

Endogenous siRNAs derived from transposons and mRNAs in Drosophila somatic cells
Ghildiyal et al.
Science (2008) vol 320 pp. 1077-1081

News and views:

Protein fossils live on as RNA
Sasidharan & Gerstein
Nature (2008) 453: 729-731

Revisiones:

Endogenous small interfering RNAs in animals
Okamura & Lai
Nature Rev. Mol Cell Biol (2008) vol 9 pp. 673-678

Post-transcriptional gene silencing by siRNAs and miRNAs
Filipowicz et al.
Curr Op Struct Biol (2005) vol 15 pp. 331-341

Metodología:

Seminarios impartidos por el profesorado y los investigadores a su cargo. En cada seminario, se hace una introducción sobre los antecedentes y el estado actual del tema objeto del seminario, así como de los métodos y técnicas utilizados, para pasar posteriormente a presentar y discutir los resultados y conclusiones de los varios artículos recientes (normalmente dos o más) que se han considerado de especial interés y relevancia. A estos seminarios, asisten todos los investigadores de los grupos de “Genética Molecular” y “Genómica y Biotecnología Molecular de Hongos”, lo que contribuye a elevar el nivel de la discusión.

Trabajo práctico de laboratorio supervisado por los profesores que permitirá a los alumnos adquirir una destreza suficiente en la utilización y aplicación de algunas técnicas de Biología Molecular.

Criterios de evaluación:

Se valorarán los siguientes aspectos:

- Asistencia a todos los seminarios.
- Calidad de los resúmenes entregados (sobre los seminarios de los profesores y sobre el trabajo realizado en el laboratorio).
- Respuestas a las evaluaciones
- Participación en los seminarios.

PROGRAMA DE POSTGRADO “BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA”
CURSO “LOCALIZACIÓN CELULAR Y TISULAR DE BIOMOLÉCULAS”

Profesorado:

Dr. Victoriano Mulero Méndez (vmulero@um.es; 868-887581) (Profesor Responsable)
Dra. Alfonsa García Ayala (agayala@um.es; 868-884968)
Dra. M^a Angeles Esteban Abad (aesteban@um.es; 868-887665)
Dr. José Meseguer Peñalver (meseguer@um.es; 868-884965)
Dra. M^a Pilar Sepulcre Cortés (mpsepul@um.es; 868-883938)
Dr. Iván Mulero Méndez (ivan.mulero@um.es; 868-883938)

Créditos y distribución: 6 créditos ECTS (150 horas)

20 horas teóricas 30 horas prácticas 100 horas de trabajo personal

Objetivos pedagógicos:

Conocer los fundamentos y aplicaciones de los distintos tipos de microscopios
Manejar los microscopios de fluorescencia y láser confocal.
Conocer los fundamentos de las técnicas inmunohistoquímicas y de hibridación *in situ*.
Ser capaz de realizar técnicas inmunohistoquímicas.
Comprender los fundamentos de la localización *in vivo* de biomoléculas mediante el uso de marcadores fluorescentes.
Ser capaz de localizar moléculas *in vivo* mediante el uso de marcadores fluorescentes.
Comprender los fundamentos de la citometría de flujo y ser capaz de utilizarla para identificar y separar poblaciones celulares.
Comprender los fundamentos del aislamiento y cultivo de células animales.
Ser capaz de utilizar la metodología de aislamiento y cultivo de células animales.
Conocer los fundamentos de la producción de anticuerpos poli y monoclonales.

Programa Teórico:

Procesamiento de muestras para microscopía
Fundamentos ópticos de la microscopía
Microscopía óptica (MO)
MO de campo claro
MO de contraste de fases e interferencial
MO de fluorescencia y de barrido confocal
Microscopía electrónica (ME)
ME de transmisión
ME de barrido

Técnicas histoquímicas de enzimas
Producción de anticuerpos policlonales
Producción de anticuerpos monoclonales
Inmunocitoquímica directa e indirecta
Inmunocitoquímica simple y co-localización
PAP y avidina-biotina
Localización celular de mRNA. Hibridación *in situ*

Medida del calcio intracelular
Medida del potencial de membrana
Medida del pH
Localización *in vivo* (“*in vivo imaging*”)

Fusiones traduccionales con GFP
Fusiones transcripcionales con GFP

Citometría de flujo
Análisis del ciclo celular
Determinación de apoptosis: TUNEL/ISEL

Cultivos celulares
Establecimiento de un cultivo primario
Métodos físicos de separación celular
Sedimentación por gravedad y elutriación
Centrifugación isopícnic
Cromatografía de afinidad y recolección en placa
FACS
MACS
Control de variables químicas: medios de cultivo y sueros
Control de variables físicas: pH y T^a.
Control de contaminaciones biológicas
Evolución de un cultivo
Cultivo primario, línea celular y línea celular continua
Transformación y senescencia
Desdiferenciación, desadaptación y selección

Programa Práctico:

Práctica 1. Técnicas de detección *in situ*

Inmunocitoquímica doble
Análisis de proliferación celular y apoptosis

Práctica 2. Cultivos celulares

Manejo de líneas celulares continuas
Transfección
Establecimiento de un cultivo primario
Separación celular mediante MACS

Práctica 3. Citometría de flujo

Estudio de poblaciones celulares
Análisis del ciclo celular mediante tinción con yoduro de propidio
Inmunofluorescencia

Práctica 4. Localización *in vivo*: Microscopía de barrido confocal

Localización celular de proteínas de fusión con GFP en líneas celulares
Localización *in vivo* de linfocitos T en peces cebras *rag2:GFP* y *lck:GFP*
Localización *in vivo* de macrófagos en peces cebras *mpx:GFP* y *lys:GFP*: movilización en respuesta a una herida

Trabajo Personal del Alumno:

El trabajo personal del alumno consistirá en la asistencia a las prácticas y preparación del correspondiente informe del trabajo experimental realizado. Además, los alumnos tendrán que preparar un seminario sobre artículo(s) científico(s) que se les proporcione.

Bibliografía:

- Celis J.E. Cell Biology: "A laboratory handbook", 2ª edición. 1997. Academic Press.
- Goding JW Monoclonal antibodies: principles and practice. 1986. Academic Press.
- Freshney RI. Culture of animal cells: a manual of basic technique (3ª ed.). 1994. John Wiley & Sons.
- Hsu K, Look AT, Kanki JP. Lessons from transgenic zebrafish expressing the green fluorescent protein (GFP) in the myeloid lineage. 2004. Methods Cell Biol. 77:333-347.
- Lodish H., Berk A., Matsudaira P, Kaiser CA, Krieger M., Scott M.P., Zipursky, S.L., Darnell, J.: "Biología Celular y Molecular", 5ª edición. 2005. Médica Panamericana.
- Zhu H, Zon LI. 2004. Use of the DsRed fluorescent reporter in zebrafish. Methods Cell Biol. 76:3-12.

Metodología:

La exposición de los temas por parte de los profesores será el componente mayoritario del programa de teórica. Las clases fomentarán la participación de los alumnos y el desarrollo de discusiones que faciliten la asimilación y un aprendizaje significativo. Se proporcionarán listados de preguntas teórico-prácticas al finalizar cada tema que tendrán que entregar resueltas los alumnos para ser discutidas en clase. De igual forma, también se suministrarán artículos científicos que los alumnos deberán presentar en forma de seminarios. El resto de alumnos y el profesorado discutirán el trabajo con el alumno que exponga el seminario. Los alumnos tendrán disponible toda la información anterior a través de la aplicación SUMA de la Universidad de Murcia. Además podrán realizar consultas *on-line* a los profesores así como auto-evaluaciones.

Las clases prácticas se desarrollarán de forma individualizada. A cada alumno se le planteará un problema concreto y se le ayudará a formular una hipótesis de trabajo. A continuación se le suministrarán las muestras adecuadas para el desarrollo del trabajo experimental que permita validar o refutar la hipótesis formulada.

Criterios de evaluación:

- Valoración de preguntas teórico-prácticas suministradas con cada tema: 4 puntos.
- Realización y aprovechamiento de las prácticas: 3 puntos.
- Exposición de artículo científico: 3 puntos.

TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR APLICADAS A LA MICROBIOLOGÍA MÉDICA

Profesorado:

- Dr. Manuel Segovia Hernández (*) (msegovia@um.es, tel: 968 369227)
- Dr. Pedro Luis Valero Guillén (plvalero@um.es, tel: 868 887184 ó 968 367134)
- Dr. Tomás Rodríguez González (torogo@um.es, tel: 968 369227)
- Dra. Genoveva Yagüe Guirao (gyague@um.es, tel: 968 369227)

(*) Responsable de la asignatura

Créditos y distribución: Créditos totales 6 ECTS

- Teóricos: 1.0 ECTS (25 horas).
- Trabajo práctico en laboratorio: 1.0 ECTS (25 horas).
- Tutorías: 0.2 ECTS (5 horas).
- Evaluación: 0.2 ECTS (5 horas).
- Trabajo personal del alumno: 3.6 ECTS (90 horas).

Objetivos:

Tras superar la asignatura, el alumno deber ser capaz de:

- Elaborar, presentar en forma escrita y exponer públicamente un documento que, de forma resumida, incluya los fundamentos teóricos-prácticos y aplicaciones clínicas de técnicas moleculares con aplicación en Microbiología Clínica
- Acceder de forma autónoma a bibliografía específica sobre diagnóstico molecular de enfermedades infecciosas y tipificación molecular de microorganismos.
- Describir la estructura general de un laboratorio de diagnóstico molecular de enfermedades infecciosas, incluyendo la dinámica de trabajo, la tecnología utilizada, sus principales aplicaciones y la protección frente a riesgos biológicos.
- Describir métodos de extracción de ADN a partir de muestras clínicas y de cultivos puros de microorganismos para su utilización posterior en el diagnóstico microbiológico de diversas enfermedades infecciosas de etiología vírica y bacteriana.
- Describir y aplicar los protocolos de análisis molecular de carga viral y de determinación de resistencias frente a diversos anti-retrovirales en muestras de pacientes infectados por VIH.
- Describir y aplicar protocolos moleculares de detección y tipificación de VPH y VHC en muestras clínicas humanas.
- Describir y aplicar protocolos moleculares dirigidos a la detección e identificación de *Mycobacterium tuberculosis* en muestras clínicas, así como sus posibles resistencias a rifampicina e isoniazida.

Programa teórico:

- PCR convencional y PCR a tiempo real: Fundamentos teórico-prácticos y aplicaciones en Microbiología Clínica. Análisis, exposición y discusión de artículos científicos con aplicaciones concretas en el ámbito de la Microbiología Clínica.
- Secuenciación de ADN. Fundamentos teóricos de los métodos de Sanger y pirosecuenciación. Otros métodos. Aplicaciones en Microbiología Clínica. Análisis, exposición y discusión de artículos científicos con aplicaciones concretas en el ámbito de la Microbiología Clínica.

- ‘Arrays’. Fundamentos teórico-prácticos y aplicaciones en Microbiología Clínica. Análisis, exposición y discusión de artículos científicos con aplicaciones concretas en el ámbito de la Microbiología Clínica.
- Técnicas de tipificación molecular de microorganismos: Electroforesis en campo de pulsos, RAPD, MLST, etc.
- Epidemiología molecular de microorganismos.

Programa práctico:

- Extracción de ADN de muestras clínicas de pacientes infectados con VIH, VHC, VPH y *Mycobacterium tuberculosis*.
- Determinación de la carga viral mediante PCR a tiempo real: VIH, VHC
- Análisis de resistencias a anti-retrovirales mediante secuenciación de ADN.
- Genotipado de VHC
- ‘Arrays’ de VPH.
- Identificación de *Mycobacterium tuberculosis* mediante PCR y determinación molecular de resistencias a rifampicina e isoniazida.

Trabajo personal del alumno:

- Estudio de los fundamentos teórico-prácticos de diversas técnicas moleculares con aplicación en Microbiología Clínica.
- Búsqueda autónoma de bibliografía sobre aplicaciones concretas y actualizaciones en el campo de la Microbiología Clínica.
- Revisión crítica de artículos sobre aplicaciones de técnicas moleculares en Microbiología Clínica.
- Elaboración de memoria escrita sobre fundamentos teórico-prácticos y aplicaciones de técnicas de biología molecular en Microbiología Clínica.
- Elaboración de una memoria escrita con los contenidos prácticos de la asignatura.
- Exposición oral de las memorias elaboradas.

Bibliografía:

Revisiones científicas:

-PCR:

- Espy MJ y cols. 2006. Clin. Microbiol. Rev. 19: 165-256.
- Valasek MA y Repa JJ. 2005. Avd. Physiol. Educ. 29: 151-159.

-Microarrays:

- Ehrenreich A. 2006. Appl. Microbiol. Biotechnol. 73: 255-273.
- Dharmadi Y, González R. 2004. Biotechnol. Prog. 20: 1309-1324.

-Secuenciación:

- Clarridge III JE. 2004. Clin. Microbiol. Rev. 17: 840-862.
- Patel JB. 2001. Mol. Diag. 6: 313-321.
- Metzcker ML. 2005. Genome Res. 15: 1767-1776.
- Shendure J y Hanlee J. 2008. Nature Biotechnol. 26: 1135-1145.

Diagnóstico molecular en general:

- Procop GW. 2007. Clin. Infect. Dis. 45: 99-111.
- Tenover FC. 2007. Clin. Infect. Dis. 44: 418-423.

Libros de texto y monografías sobre los temas que integran los contenidos del curso:

- Murray PR (ed.in chief). 2005. Manual of Clinical Microbiology. ASM Press. Washington.
- Reddy C.A. y cols. (eds.). 2007. Methods for General and Molecular Microbiology. ASM Press, Washington.
- Persing D.H. y cols. (eds.) 1993. Molecular Microbiology. Diagnostic Principles and Practice. ASM Press, Washington.
- Monografías específicas sobre protocolos de diagnóstico molecular de infección por *Mycobacterium*, VIH, VHC, VHB y VPH de la sección de Biología Molecular del Servicio de Microbiología del HUVA-Murcia

Artículos y revisiones de interés (exposición y análisis en el aula, curso 2008-2009):

- Fukushima M. et al. 2003. Detection and Identification of *Mycobacterium* Species Isolates by DNA Microarray. J. Clin. Microbiol. 41: 2605-2615.
- Morozumi M. y cols. 2006. Simultaneous detection of pathogens in clinical samples from patients with community-acquired pneumonia by real-time PCR with pathogen-specific molecular beacon probes. J. Clin. Microbiol. 44: 1440-1446.
- Schurman T. y cols. 2004. Prospective study of use of PCR amplification and sequencing of 16s ribosomal dna from cerebrospinal fluid for diagnosis of bacterial meningitis in a clinical setting. J. Clin. Microbiol. 42: 734-740.
- Yam W.C. y cols. 2004. Direct detection of rifampin-resistant *mycobacterium tuberculosis* in respiratory specimens by PCR-DNA sequencing. J. Clin. Microbiol. 42: 4438-4443.
- Pérez F. y cols. 2007. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob. Agents Chemother. 51: 3471-3484.
- Speers DJ. 2006. Clinical applications of molecular biology in infectious diseases. Clin. Biochem. Rev. 27: 39-51.
- Hillemann D y cols. 2007. Evaluation of the genotype MTBDRplus assay for rifampin and isoniazid susceptibility testing of *Myocobacterium tuberculosis* strains in clinical samples. J. Clin. Microbiol. 45: 2635-2640.
- Deurenberg RH y cols. 2007. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin. Microbiol. Infect. 13: 222-235.
- Fox A y cols. 2007. Standarized nonculture techniques recommended for European reference laboratories. FEMS Microbiol. Rev. 31: 84-88.

Metodología:

- Clase magistral en aula para exposición de fundamentos teóricos.
- Seminarios en aula para análisis y exposición de revisiones y artículos científicos y para exposición de memorias teórico-prácticas.
- Trabajos prácticos tutorizados por el profesorado en el laboratorio de Biología Molecular (Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca).

Evaluación: Se aplicarán los criterios numéricos habituales.

- Calidad de los resúmenes sobre fundamentos teórico-prácticos de las técnicas moleculares con aplicación en Microbiología Clínica: 50%.
- Calidad de la presentación oral sobre fundamentos teórico-prácticos de las técnicas moleculares con aplicación en Microbiología Clínica: 50%.
- Se tendrá en cuenta la participación activa en las clases por parte del alumno.

TRANSPORTE IÓNICO EN LA CÉLULA: ASPECTOS MOLECULARES Y METODOLÓGICOS

Profesorado

Francisco Fernández Belda (fbelda@um.es; 968-364763)
José A. Teruel Puche (teruel@um.es; 968-364772)
Fernando Soler Pardo (fsoler@um.es; 968-364771)
Maria Senena Corbalán García (senena@um.es; 968-364775)

Créditos y distribución: 6 créditos ECTS (150 horas)

33 horas teóricas 12 horas prácticas 105 horas de trabajo personal

Objetivos pedagógicos

Proporcionar una visión estructural y funcional del transporte iónico celular. Conocer los principios básicos del transporte. Analizar estrategias para aislar y caracterizar transportadores de membrana. Estudiar técnicas experimentales para medir el transporte iónico. Conocer la estructura y función de algunos transportadores y su relación con procesos patológicos.

Programa Teórico

I. Transporte iónico a través de membranas

Introducción. Transporte de tipo poro. Transporte de tipo portador. Aspectos termodinámicos del transporte. Estructuras y modelos de proteínas transportadoras. Relación entre estructura y especificidad de transporte. Regulación de transportadores. Estrategias para identificar, aislar y caracterizar un transportador de membrana. Criterios cinéticos. Uso de inhibidores. Aislamiento de proteínas transportadoras.

II. Cinética del transporte en biomembranas

Procedimientos experimentales. Intercambio en equilibrio. Procedimiento trans-cero. Procedimiento trans-infinito. Procedimiento cis-infinito. Flujo en dirección contraria. Modelos de transporte. Utilización de vesículas de membrana para estudios de cinética del transporte.

III. Técnicas para el estudio de canales iónicos

Utilización de radioisótopos. Uso de electrodos de iones. Determinación del potencial de membrana con sondas espectroscópicas. Medidas de diferencia de potencial: pinzamiento de voltaje. Técnicas de cinética rápida. Flow-quench. Stopped-flow. Filtración rápida.

IV. Medidas de H^+ , K^+ , Na^+ y Ca^{2+}

Indicadores fluorescentes. Métodos para visualizar Ca^{2+} intracelular. Fotoproteínas: Definición, estructura de acuorina, método para medir la concentración de proteína activa en la célula y localización de acuorina en distintos compartimentos intracelulares. Indicadores fluorescentes: detección intracelular. Proteínas fluorescentes. Aplicación de la transferencia de energía de fluorescencia (FRET): FRET entre derivados de proteína verde fluorescente (GFP) fusionados a calmodulina (camaleones) y FRET entre derivados de acuorina y GFP.

V. Transporte de Ca^{2+} y su regulación en la célula

Entrada de Ca^{2+} desde el medio extracelular. Canales intracelulares de Ca^{2+} . ATPasas dependientes de Ca^{2+} . Intercambiador Na^+-Ca^{2+} . Transporte de Ca^{2+} en la mitocondria. Señales elementales y globales de Ca^{2+} . Papel del Ca^{2+} como regulador intracelular.

VI. Temas seleccionados

ATPasas de tipo P. Na^+, K^+ -ATPasa. Intercambiador Na^+-H^+ y regulación del pH. Cotransportador de Na^+ -aminoácidos. Canales de K^+ sensibles a voltaje en mamíferos. Canales rectificadores de K^+ (Kir). Canales de Na^+ sensibles a voltaje en mamíferos. Canal de Ca^{2+} asociado al receptor de glutamato en sistema nervioso central. Canal de Ca^{2+} sensible a voltaje en sinapsis neuronal. Canal aniónico mitocondrial (VDAC).

VII. Transporte y enfermedad

Receptor de rianodina e hipertermia maligna. Canal de Cl⁻ y fibrosis quística. Receptor nicotínico de acetilcolina y miastenia gravis. Glicoproteína-P (transportador ABC) y resistencia a quimioterapia. Poro de transición de permeabilidad mitocondrial y apoptosis. Canales TRP y patologías asociadas. Transportadores renales de Na⁺ e hipertensión. Inhibición de Na⁺,K⁺-ATPasa y efectos en músculo cardíaco. Canales de K⁺ sensibles a voltaje y patologías asociadas. Canales de Na⁺ y patologías asociadas.

Programa Práctico

VIII. Actividad de la bomba de Ca²⁺ de retículo sarcoplásmico

Efecto activador de Ca²⁺ sobre la velocidad de hidrólisis de ATP. Activación por ATP: cinética. Inhibición por concentraciones elevadas de Ca²⁺.

IX. Propiedades eléctricas de una célula excitable modelo: simulaciones en un cardiomiocito de ventrículo de rata

Efecto de distintos transportadores sobre el potencial de acción. Efecto de concentraciones intra y extracelulares de Na⁺, K⁺, Cl⁻ y Ca²⁺ sobre corrientes iónicas. Efecto de bloqueadores de canales sobre el potencial de acción. Acoplamiento excitación-contracción: papel de canales de Ca²⁺ dependientes de voltaje, canal intracelular de Ca²⁺ y Ca²⁺-ATPasa.

X. Medidas de Ca²⁺ citosólico en células vivas

Determinación de la concentración de Ca²⁺ intracelular de células MCF-7 mediante el uso del indicador fluorescente Fluo-3 y el uso de la microscopía confocal.

Trabajo Personal del Alumno

Preparación de seminarios a impartir en clase, elaboración de resúmenes, y preparación y estudio del programa para la evaluación global.

Bibliografía

- Biomembranes Transport. Lon J. Van Winkle (1995). Academic Press.
- Ionic Channels of Excitable Membranes 2a ed. B. Hille (1992), Sinauer.
- Electrogenic Ion Pumps. P. Läuger (1991). Sinauer.
- Channels, Carriers and Pumps: An Introduction to Membrane Transport. W.D. Stein (1990). Academic Press.
- Ion Channels and Disease. F.M. Ashcroft (2000). Academic Press.
- Potassium channel structure: Domain by domain. (2000) Biggin, P.C., Roosild, T. y Choe, S. Curr. Opin. Struct. Biol. 10, 456-461.
- Principles of Selective Ion Transport in Channels and Pumps (2005) Gouaux, E. y McKinnon, R. Science 310, 1461-1465.
- Structural changes in the calcium pump accompanying the dissociation of calcium (2002) Toyoshima, C. y Nomura, H. Nature 418, 605-611.
- Crystal structure of the calcium pump with a bound ATP analogue. (2004) Toyoshima, C. y Mizutani, T. Nature 430, 529-535.

Metodología

El curso combina de forma equilibrada la exposición de la materia en forma de lección magistral por parte del profesor, discusiones de los temas tratados, seminarios impartidos por los alumnos, sesiones experimentales de laboratorio y simulación de transporte iónico en un modelo de ordenador.

Criterios de evaluación

Redacción en el aula de "título y resumen" de trabajos de investigación seleccionados de la bibliografía (65%-70%).

Preparación y exposición de un seminario de investigación relacionado con la materia (20%-25%).

Aprovechamiento de las sesiones de prácticas (10%-15%).

Nota: Examen escrito de la materia caso de que las faltas de asistencia superen el 20%.