



Asignatura: Laboratorio Avanzado en Biología Molecular  
Código: 16316  
Centro: Facultad de Ciencias  
Titulación: Grado de Biología  
Nivel: Grado  
Tipo: Obligatoria  
Nº de créditos: 6 créditos ECTS

## 1. ASIGNATURA / COURSE TITLE

LABORATORIO AVANZADO en BIOLOGÍA MOLECULAR / [ADVANCED LABORATORY IN MOLECULAR BIOLOGY](#)

### 1.1. Código / Course Code

13774

### 1.2. Materia / Content área

Bioquímica/ [Biochemistry](#)

### 1.3. Tipo / Type of course

Formación obligatoria / [Compulsory subject](#)

### 1.4. Nivel / Course level

Grado / [Bachelor \(first cycle\)](#)

### 1.5. Curso / Year

3º / [3<sup>rd</sup>](#)

### 1.6. Semestre / Semester

2º / [2<sup>nd</sup> \(Spring semester\)](#)

### 1.7. Idioma / Language

Español. Se emplea también Inglés en material docente / [In addition to Spanish, English is also extensively used in teaching material](#)

### 1.8. Requisitos Previos / Prerequisites

Es recomendable disponer de un nivel de inglés que permita al alumno leer bibliografía relevante al tema de las prácticas.

[Students must have a suitable level of English to enable them to read and understand references relevant to the subject published in that language.](#)



Asignatura: Laboratorio Avanzado en Biología Molecular  
Código: 16316  
Centro: Facultad de Ciencias  
Titulación: Grado de Biología  
Nivel: Grado  
Tipo: Obligatoria  
Nº de créditos: 6 créditos ECTS

Es recomendable que el alumno esté familiarizado con los conceptos tratados en Bioquímica y Fundamentos de Bioquímica (Prácticas)/ [Students should be familiar with the notions acquired in Biochemistry and Fundamentals of Biochemistry \(Lab. Courses\).](#)

### 1.9. Requisitos mínimos de asistencia a las sesiones presenciales / [Minimum attendance requirement](#)

La asistencia es obligatoria / [Attendance is mandatory](#)

Al ser una asignatura experimental, es esencial y obligatoria la presencia del alumno para poder desarrollar las experiencias y evaluar la adquisición de competencias.

[Being an experimental course, it is essential and mandatory the attendance of the student in order to carry out the experiments by himself/herself, and to acquire several experimental competences and abilities](#)

### 1.10. Datos del profesor/a / profesores / [Faculty Data](#)

Pedro Bonay Miarons  
(Coordinador)

Departamento: Biología Molecular  
Centro de Biología Molecular “Severo Ochoa”  
Lab 408  
Teléfono: 911964509  
e-mail: [pbonay@cbm.uam.es](mailto:pbonay@cbm.uam.es)  
Página Web: [www.uam.es/pedro.bonay](http://www.uam.es/pedro.bonay)  
Horario de Tutorías Generales: Cualquier día lectivo previa petición de cita.

En caso de necesitar dos grupos porque así lo requiera la matrícula de estudiantes, el Departamento designará otro profesor para impartir la docencia de este segundo grupo. Esta designación se comunicará oportunamente. En ese caso la docencia será simultánea en dos laboratorios independientes con las mismas facilidades. [The lecturer will be available to attend students any working day under previous appointment. If required due to higher number of students enrolled in the course, the Department will allocate another lecturer to be in charge of the second group who will give the lectures and practical course in an independent laboratory with the same facilities.](#)



Asignatura: Laboratorio Avanzado en Biología Molecular  
Código: 16316  
Centro: Facultad de Ciencias  
Titulación: Grado de Biología  
Nivel: Grado  
Tipo: Obligatoria  
Nº de créditos: 6 créditos ECTS

## 1.11. OBJETIVOS DEL CURSO /OBJECTIVE OF THE COURSE

### 1.- Adquisición de conocimientos

La asignatura se dicta en el tercer curso (semestre de primavera) del Grado de Biología y pretende que los estudiantes implementen los conocimientos adquiridos en las áreas de Bioquímica y Biología Molecular en proyectos experimentales de laboratorio. Comprende dos partes independientes como pequeños proyectos de investigación. Se intenta estimular la aplicación del método científico, promover que el alumno/a adquiera la destreza de plantear hipótesis, diseñar objetivos, llevar a cabo experimentos siguiendo un protocolo, y que por último sea capaz de exponer sus resultados en forma de artículos científicos y/o en exposiciones orales en los que sea capaz de plasmar sus conclusiones.

La asignatura es netamente experimental y se da relevancia a las prácticas de laboratorio para que los conocimientos teóricos adquiridos en los cursos anteriores, puedan ser comprobados e implementados por los alumnos y de esta forma descubrir cómo a través del método científico obtenemos resultados fruto de la experimentación. Al finalizar el curso los alumnos dispondrán de las herramientas conceptuales necesarias para discutir la idoneidad de ciertas técnicas Bioquímicas y de Biología Molecular para responder a preguntas relevantes en el área temática.

### 1 - . Acquiring knowledge

The course is taught in the third year ( spring semester ) Grade Biology and want the students to implement the knowledge acquired in the areas of Biochemistry and Molecular Biology Laboratory in pilot projects . It comprises two parts as small independent research projects. It aims to stimulate the application of the scientific method , promoting the student / to acquire the skill of hypothesizing , design objectives , conducting experiments using a protocol , and finally be able to present their results in the form of scientific papers and / or oral presentations in which it is able to translate their findings .

The course is purely experimental and relevance is given to the labs to the theoretical knowledge acquired in previous courses , can be checked and implemented by students and thus discover how to get through the scientific method of experimentation results arising . After completing the course , students have the conceptual tools necessary to discuss the suitability of certain Biochemical and Molecular Biology techniques to answer important questions in the subject area .



Asignatura: Laboratorio Avanzado en Biología Molecular  
Código: 16316  
Centro: Facultad de Ciencias  
Titulación: Grado de Biología  
Nivel: Grado  
Tipo: Obligatoria  
Nº de créditos: 6 créditos ECTS

## 1.12. Contenidos del Programa / Course Contents

### Primera parte:

Esta parte del programa de la asignatura pretende ilustrar la tecnología o el conjunto de técnicas que nos permite la manipulación del material genético. Para este objetivo, vamos a utilizar algunas técnicas que son habituales en cualquier laboratorio de investigación en el que se manipulen ácidos nucleicos y se trabaje en el estudio de la regulación de la expresión génica. En concreto, nosotros nos vamos a concentrar en lo que podríamos denominar como técnicas de clonaje y expresión en vectores plasmídicos. Por ello, el objetivo global de este conjunto de prácticas será clonar un fragmento de DNA, que es un cDNA, y expresar la información contenida en este cDNA en células humanas. Alcanzar este objetivo implica aprender el manejo de técnicas como las de PCR, cultivos bacterianos, digestión con enzimas de restricción, electroforesis en geles de agarosa, transformación bacteriana, purificación de plásmidos, secuenciación de plásmidos, cultivo de células eucarióticas, transfección de células con plásmidos y microscopía óptica.

### Segunda Parte:

En esta segunda parte de los trabajos de laboratorio se pretende ampliar y complementar los conocimientos adquiridos durante los cursos previos del grado en aspectos prácticos y metodológicos avanzados de un laboratorio de Bioquímica. Se compone de diversos ejercicios que permiten al alumno aplicar metodologías varias dentro de un pequeño proyecto que implica la extracción, purificación y caracterización molecular y enzimática de una proteína, la fosfatasa acida de germen de trigo, incluyendo una estimación de la purificación y realizar un balance de recuperación. La caracterización molecular implica estimaciones del tamaño molecular nativo y en condiciones desnaturalizantes, y la caracterización bioquímica está destinada a evaluar sus propiedades enzimáticas como dependencia de la concentración de enzima, tiempo, pH óptimo, cálculo de las constantes cinéticas y constantes de inhibición competitiva y no competitiva. Se completará el análisis bioquímico con un ensayo de la presencia de modificaciones post-traduccionales, en particular, la glicosilación en la enzima purificada mediante tinciones específicas y tratamiento con enzimas exo- y endoglicosidasas.



Asignatura: Laboratorio Avanzado en Biología Molecular  
Código: 16316  
Centro: Facultad de Ciencias  
Titulación: Grado de Biología  
Nivel: Grado  
Tipo: Obligatoria  
Nº de créditos: 6 créditos ECTS

## Contenidos Teóricos y Prácticos:

Comprende tres semanas de trabajo práctico con cinco clases teóricas en las que se presentan monográficamente las técnicas básicas de Bioquímica y Biología Molecular: historia, desarrollo, aplicaciones.

## Objetivos y Capacidades a Desarrollar:

El curso tiene una finalidad integradora, en la que el estudiante se enfrenta a dos proyectos de investigación en Bioquímica y Biología Molecular y debe implementar diversas técnicas para el desarrollo de los mismos.

El estudiante al finalizar el curso se habrá familiarizado con las siguientes técnicas y conceptos:

- Reacción en cadena de la polimerasa.
- Técnicas de secuenciación de ADN.
- Diseño de oligonucleótidos para PCR y para secuenciación.
- Preparación de ADN plasmídico (minipreps) y análisis por geles de agarosa y digestión con enzimas de restricción.
- Análisis de secuencias de ADN.
- Generación de plásmidos de expresión eucariota y técnicas de transfección en células eucariotas.
- Cultivo de células eucariotas, conteo celular.
- Microscopia de fluorescencia y análisis de localización subcelular empleando diversos marcadores fluorescentes.
- Cromatografías, conceptos y aplicaciones. Criterios de pureza de una proteína.
- Análisis de modificaciones post-traduccionales (Ejemplo: glicosilación).
- Digestiones con exo y endoglicosidasas. Marcaje fluorescente de residuos glicanos (ProQ emerald y Nile Red).
- Determinación de parámetros cinéticos de una enzima purificada.
- Inhibición enzimática competitiva y no competitiva.

### Part One:

This part of the course syllabus is intended to illustrate technology or set of techniques that allows the manipulation of genetic material. For this purpose, we will use some techniques that are common in any research laboratory in which nucleic acids are handled and works on the study of the regulation of gene expression.

Specifically, we will focus on what techniques could call cloning and expression plasmid vectors. Therefore, the overall objective of this set of practices will clone a DNA fragment, a cDNA, and express the information



Asignatura: Laboratorio Avanzado en Biología Molecular  
Código: 16316  
Centro: Facultad de Ciencias  
Titulación: Grado de Biología  
Nivel: Grado  
Tipo: Obligatoria  
Nº de créditos: 6 créditos ECTS

contained in this cDNA in human cells. Achieving this goal entails learning management techniques such as PCR, bacterial cultures, restriction enzyme digestion, agarose gel electrophoresis, bacterial transformation, plasmid purification, sequencing of plasmids, eukaryotic cell culture, transfection of cells with plasmids and optical microscopy.

### **Part Two:**

In this second part of the laboratory work is intended to extend and complement the knowledge acquired during previous advanced degree courses in practical and methodological aspects of a biochemistry laboratory. It consists of different exercises that allow students to apply various methodologies within a small project involving the extraction, purification and molecular and enzymatic characterization of a protein, acid phosphatase from wheat germ, including an estimate of the purification and take stock recovery. Molecular characterization involves native molecular size estimates and denaturing conditions, and the biochemical characterization is intended to evaluate its enzymatic properties as dependent enzyme concentration, time, pH optimum, calculation of the kinetic constants and constants for competitive inhibition and not competitive. Biochemical analysis with an assay for the presence of post-translational modifications are completed, in particular glycosylation enzyme purified by treatment with specific stains and exo- and endoglycosidases enzymes.

### **Practical and formal content:**

It includes three weeks of practical work with five lectures in which the whole group attend monographic themes on the basic techniques of biochemistry and molecular biology, including history, development, applications.

### **Objectives and Skills to develop:**

The course has an integrative purpose, in which the student is confronted with two research projects in Biochemistry and Molecular Biology and must implement various techniques to develop them.

The student after completing the course should be familiar with the following concepts and techniques. Being able to discuss handicaps, advantages and alternative techniques:

- Reaction Polymerase chain.
- DNA sequencing techniques.
- Design of oligonucleotides for PCR and sequencing.
- Preparation of plasmid DNA (minipreps) and agarose gel analysis and restriction enzyme digestion.



Asignatura: Laboratorio Avanzado en Biología Molecular  
Código: 16316  
Centro: Facultad de Ciencias  
Titulación: Grado de Biología  
Nivel: Grado  
Tipo: Obligatoria  
Nº de créditos: 6 créditos ECTS

- Analysis of DNA sequences.
- Generation of eukaryotic expression plasmids and transfection techniques in eukaryotic cells.
- Cultivation of eukaryotic cells, cell counting.
- Fluorescence microscopy and subcellular localization analysis using various fluorescent markers.
- chromatographies, concepts and applications. Purity criteria.
- Analysis of post- translational modifications (Example: glycosylation ) .
- Digestions exo and endoglycosidases . Fluorescent labeling of glycans residues ( ProQ emerald and Nile Red ) .
- Determination of kinetic parameters of the purified enzyme.
- Competitive and noncompetitive enzyme inhibition.

## 1.12. Referencias de consulta / Course bibliography

### Bibliografía Basica /Basic Bibliography

- Nelson, D.L. y Cox, M.M. (2005). Lehninger Principios de Bioquímica. 4ª edición. Ed. Omega.
- Mathews, C.K., Van Holde, K.E. y Ahern KG (2002). Bioquímica. 3ª edición. Ed. Addison Wesley/Pearson Education. Madrid.
- McKee, T. y McKee J. R. (2003). Bioquímica. La base molecular de la vida. 3ª edición. Ed. McGraw-Hill
- Koolman, J. y Rohn, KH (2004). Bioquímica. Texto y atlas. 3ª edición. Ed. Médica Panamericana

### Bibliografía de consulta / Consulting books

- Smith, C., Marks, A.D., Lieberman, M. (2005). Bioquímica básica de Marks. Un enfoque clínico. 2ª edición. Ed. McGraw-Hill
- Devlin, T. M. (2004). Bioquímica. Un texto con aplicaciones clínicas. 4ª edición. Ed. Reverte.

### Recursos web/ web resources on Biochemistry learning and teaching

- 1.- <http://faculty.mansfield.edu/bganong/home.html>
- 2.- <http://spdbv.vital-it.ch/TheMolecularLevel/Biochem/index.html>
- 3.- <http://chemistry.about.com/od/sciencefairprojects/ht/bibliography.htm>
4. [http://www.bioscience.heacademy.ac.uk/resources/oer/projectpartners\\_VBioc.aspx](http://www.bioscience.heacademy.ac.uk/resources/oer/projectpartners_VBioc.aspx)



Asignatura: Laboratorio Avanzado en Biología Molecular  
Código: 16316  
Centro: Facultad de Ciencias  
Titulación: Grado de Biología  
Nivel: Grado  
Tipo: Obligatoria  
Nº de créditos: 6 créditos ECTS

5.- <http://www.hoslink.com/biotut.htm>

6.- <http://www.onlinebiochemistrycourse.com/instructors/>

## 2 Métodos Docentes / Teaching methods

### 1. Introducciones teóricas a cada sesión práctica.

Se dictan cinco Teóricas a lo largo de las tres semanas de práctica.

En estas sesiones se explicarán los fundamentos biológicos de los problemas que se van a abordar en las prácticas. Se explicarán las técnicas que se van a utilizar, así como, el manejo de los aparatos que se emplearán para llevar a cabo los experimentos planteados, normas de uso y principios fundamentales de cada técnica a emplear durante el curso. Serán presentados con ejemplos de sus ventajas y desventajas y técnicas complementarias y/o alternativas.

### 2. Clases prácticas:

En estas sesiones los alumnos se familiarizarán con el empleo de aparatos y técnicas propias de un laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular. Llevarán a cabo los experimentos necesarios para obtener los resultados que les permitan extraer conclusiones. Manejo de bases de datos, análisis de secuencias de ADN. Empleo de software de Biología Molecular.

Estas sesiones serán cada día durante tres semanas con una duración media de cuatro horas diarias.

### Tutorías ( Incluidas virtuales)

- Seguimiento por parte del profesor de la preparación de las exposiciones orales, de los trabajos escritos y cuaderno de protocolo, así como de cualquier consulta necesaria para la resolución de problemas.

Los horarios de tutoría serán establecidos por cada profesor.

## 3 Tiempo estimado de Trabajo del Estudiante / Estimated workload for the student

Dedicación	horas
Asistencia al laboratorio	60
Preparación y elaboración de trabajos orales y escritos	48
Estudio y Preparación de exámenes	30
Realización de exámenes	4





Asignatura: Laboratorio Avanzado en Biología Molecular  
Código: 16316  
Centro: Facultad de Ciencias  
Titulación: Grado de Biología  
Nivel: Grado  
Tipo: Obligatoria  
Nº de créditos: 6 créditos ECTS

Asistencia a tutorías programadas:	8
Carga total de horas de trabajo:	150

## 4 Métodos de Evaluación y Porcentaje en la Calificación Final / Evaluation procedures and weight of components in the final grade

- **Descripción detallada del procedimiento para la evaluación**

Se solicita un cuaderno de protocolo, en el que el estudiante debe reflejar todo cuanto realiza en el laboratorio, incluyendo cálculos necesarios para preparación del material (soluciones, enzimas, sustratos, etc.), procesamiento de los datos (Balance recuperación, cálculo del Peso Molecular de un fragmento de DNA o proteína, cálculo del  $K_m$  y  $V_{max}$  de una enzima etc.), así como la interpretación de los mismos. Así mismo debe reflejar cualquier contingencia ocurrida durante el trabajo práctico. Este cuaderno de protocolo sigue el esquema básico de reporte de investigación, en el que cada grupo de trabajo (parejas) debe presentar una pequeña introducción al estado actual del tema, materiales y métodos de modo abreviado, resultados tabulados, gráficas y fotos así como una discusión crítica de los mismos y su adecuación a la bibliografía.

Se entregará un cuaderno de protocolo/artículo por cada bloque temático/conceptual de la asignatura (Bioquímica y Biología Molecular).

40%. Cuaderno de protocolo y evaluación diaria del desempeño, atención, participación del estudiante, pequeños cuestionarios en días alternos, resolución de ejercicios planteados diariamente, ejercicios cortos planteados para ser resueltos y entregados al día siguiente y discutidos en el aula.

El 60% restante deriva de un examen final realizado en fecha y lugar fijado por la Facultad de una duración aproximada de 4 horas.

La asistencia al laboratorio es obligatoria, la ausencia de una jornada sin causa justificada supondrá el suspenso de la asignatura.

Es imprescindible entregar el cuaderno de laboratorio para poder presentarse al examen final.



Asignatura: Laboratorio Avanzado en Biología Molecular  
Código: 16316  
Centro: Facultad de Ciencias  
Titulación: Grado de Biología  
Nivel: Grado  
Tipo: Obligatoria  
Nº de créditos: 6 créditos ECTS

Si el resultado global es un suspenso, el alumno podrá presentarse a la convocatoria extraordinaria en la que solo se le evaluará en un examen, manteniendo el 40% de la nota del Cuaderno de protocolo entregado previo a la convocatoria ordinaria.

## 5 Cronograma / Course calendar

Semana Week	Contenido Contents	Horas presenciales Contact hours	Horas no presenciales Independent study time
1	Día 1. Introducción general. Bioquímica de proteínas y factores que afectan solubilidad. Preparación extracto salino. Fraccionamiento con solventes orgánicos. Día 2.- Cromatografía Intercambio Iónico. Estimación de actividad. Pool de fracciones activas. Día 3.- Determinación pH optimo y estabilidad. Determinación de Proteína. Rango óptimo de actividad. Día 4.- Cinética enzimática I Día 5.- Cinética Enzimática II. Digestión Endo y Exoglicosidasas	4 horas diarias	
2	Día 6.- Electroforesis SDS-PAGE. Tinción Coomassie. Día 7.- Análisis de resultados Técnicas Bioquímicas de análisis. Bondades y limitaciones de las técnicas empleadas. Introducción a la glicómica Día 8.- Introducción Biología Molecular. Colony PCR. Día 9.- Análisis de las PCR, digestiones con enzimas de restricción y evaluación de las digestiones. Día 9.-Preparacion de plásmidos,	4 horas diarias	



Asignatura: Laboratorio Avanzado en Biología Molecular  
Código: 16316  
Centro: Facultad de Ciencias  
Titulación: Grado de Biología  
Nivel: Grado  
Tipo: Obligatoria  
Nº de créditos: 6 créditos ECTS

<b>Semana Week</b>	<b>Contenido Contents</b>	<b>Horas presenciales Contact hours</b>	<b>Horas no presenciales Independent study time</b>
	digestión con ER, evaluación de las digestiones. Ligación inserto/vector. Transformación y Cultivo de bacterias. Día 10.- Minipreps, digestión y análisis de resultados.		
3	Día 11.- Selección de transformantes positivos. Evaluación y cálculo de la eficiencia de PCR y transformación Día 12.- Análisis de secuencias. Manejo de programas de Bioinformática y análisis de secuencias Día 13. Introducción al cultivo de tejidos. Manipulación de cultivos de células (plaqueo, tripsinación, conteo, evaluación de viabilidad). Día 14.- Transfección de cultivos con los plásmidos generados por los alumnos Día 15.- Observación de las transfecciones a 24h post-transfección. Tinción específica de núcleos, ER, Golgi y mitocondrias. Discusión de resultados.	4 horas diarias	