

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

### 1. DESCRIPCIÓN DE LA ASIGNATURA

<b>Grado:</b>	<b>Biotecnología</b>
<b>Doble Grado:</b>	
<b>Asignatura:</b>	<b>Genética Molecular</b>
<b>Módulo:</b>	<b>Bioquímica y la Biología Molecular</b>
<b>Departamento:</b>	<b>Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica</b>
<b>Año académico:</b>	<b>2013-2014</b>
<b>Semestre:</b>	<b>Segundo semestree</b>
<b>Créditos totales:</b>	<b>4,5 ECTS</b>
<b>Curso:</b>	<b>2º</b>
<b>Carácter:</b>	<b>Obligatoria</b>
<b>Lengua de impartición:</b>	<b>Español</b>

<b>Modelo de docencia:</b>	<b>B1</b>	
<b>a. Enseñanzas Básicas (EB):</b>		<b>60%</b>
<b>b. Enseñanzas de Prácticas y Desarrollo (EPD):</b>		<b>40%</b>
<b>c. Actividades Dirigidas (AD):</b>		<b>-</b>

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

### 2. EQUIPO DOCENTE

#### 2.1. Responsable de la asignatura Rafael Rodríguez Daga

#### 2.2. Profesores

<b>Nombre:</b>	<b>Rafael Rodríguez Daga</b>
<b>Centro:</b>	<b>Facultad de Ciencias Experimentales</b>
<b>Departamento:</b>	<b>Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica</b>
<b>Área:</b>	<b>Genética</b>
<b>Categoría:</b>	<b>Profesor Titular</b>
<b>Horario de tutorías:</b>	<b>Jueves 16-18h</b>
<b>Número de despacho:</b>	<b>E22 Despacho 19 (2ª planta)</b>
<b>E-mail:</b>	<b>rroddag@upo.es</b>
<b>Teléfono:</b>	<b>954977551</b>

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

### 3. UBICACIÓN EN EL PLAN FORMATIVO

#### 3.1. Descripción de los objetivos

Conocer la estructura de los genomas eucariotas y las distintas estrategias de regulación génica

Conocer en qué consiste la epigenética y la importancia de ésta en la reprogramación celular

Conocer los mecanismos básicos de la morfogénesis celular

Conocer los mecanismos de regulación del ciclo celular eucariota

Conocer los mecanismos de control del envejecimiento

Conocer qué son las células madre y su importancia en terapia regenerativa

Descifrar rutas genéticas a partir de fenotipos de mutantes

#### 3.2. Aportaciones al plan formativo

La Genética Molecular es una materia básica que está encuadrada en el módulo didáctico que comprende la Bioquímica y la Biología Molecular.

La Genética Molecular aporta dentro de este módulo los conceptos básicos de regulación de la expresión génica eucariota así como la descripción de distintos procesos biológicos como el control del ciclo celular o la reprogramación celular. El objetivo es formar al estudiante en el manejo y entendimiento a nivel molecular de las rutas genéticas que controlan dichos procesos con el objetivo de poder aplicar este conocimiento al desarrollo de estrategias biotecnológicas para curar o paliar enfermedades, como el cáncer, enfermedades neurodegenerativas, etc., enfermedades que resultan de la desregulación de los procesos que estudiamos.

#### 3.3. Recomendaciones o conocimientos previos requeridos

Pre-requisitos esenciales: Tener conocimientos básicos de Genética General e Ingeniería Genética.

Pre-requisitos aconsejables: Conocimiento del Inglés y manejo de bases de datos de bibliografía.

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

### 4. COMPETENCIAS

#### 4.1 Competencias de la Titulación que se desarrollan en la asignatura

Desarrollar las habilidades de aprendizaje necesarias que permitan al estudiante emprender, con un elevado nivel de autonomía, estudios posteriores.

Conocer y comprender los procesos biológicos generales desde un punto de vista molecular.

Utilizar la literatura científica y técnica de vanguardia.

Desarrollar las habilidades de trabajo y discusión en grupo.

Desarrollar la capacidad creativa.

Comprender la aplicabilidad de los conocimientos que se adquieren.

Saber analizar, sintetizar y utilizar el razonamiento crítico en ciencia.

Comprender el método científico.

Trabajar de forma adecuada en un laboratorio biológico.

Conocer y aplicar las herramientas, técnicas y protocolos de experimentación en el laboratorio.

Cultivar y manipular microorganismos.

Adquirir, desarrollar y aplicar las principales técnicas de preparación, tinción y observación de muestras biológicas.

Adquirir las capacidades de observación e interpretación de los resultados obtenidos.

#### 4.2. Competencias del Módulo que se desarrollan en la asignatura

1. Diseñar estrategias genéticas para abordar un problema biológico.
2. Inferir rutas genéticas a partir de fenotipos de mutantes y de cambios de expresión.
3. Describir los mecanismos moleculares de los principales procesos celulares.
4. Trabajar de forma adecuada en laboratorios de bioquímica y biología molecular, incluyendo seguridad, manipulación de residuos.

#### 4.3. Competencias particulares de la asignatura

Competencias particulares de la asignatura para cada una de las distintas actividades propuestas en la asignatura:

##### I. Competencias instrumentales relacionadas con los contenidos

1. Conocimiento y comprensión de los procesos biológicos a nivel molecular.
2. Familiarizarse con los conceptos teóricos y principios fundamentales de la asignatura tales como: la regulación de la expresión génica, control del ciclo, morfogénesis, etc.

##### II. Competencias instrumentales relacionadas con las prácticas de laboratorio

1. Adquirir manejo instrumental y hábitos de trabajo en un laboratorio.
2. Familiarizarse con el diseño, análisis, e interpretación de experimentos y resultados científicos.

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

### III. Competencias personales relacionadas con las prácticas de laboratorio

1. Trabajar de forma adecuada en un laboratorio biológico
2. Conocer y aplicar las herramientas, técnicas y protocolos de experimentación.
3. Realizar cultivos de microorganismos.
4. Adquirir, desarrollar y aplicar las principales técnicas de preparación, tinción y observación de muestras biológicas.
5. Diseñar, analizar e interpretar los resultados de experimentos dirigidos a la interrupción de una función génica en sus variantes más habituales.
6. Analizar e interpretar diferentes estrategias de regulación de la expresión génica.

### IV. Competencias personales relacionadas con el estudio personal

1. Estudio, reflexión y asimilación de los conceptos teóricos.
2. Acercamiento a la literatura científica y técnica de vanguardia.
3. Búsqueda y selección de información relacionada con la asignatura en bases de datos bibliográficas.

### **V. Competencias personales relacionadas con la realización de ejercicios individualmente y en equipo.**

1. Adquirir dominio en la resolución de problemas.
2. Adquirir hábitos de exposición y discusión sobre resultados y temas científicos.

### **VI. Competencias personales relacionadas con el desarrollo, redacción y presentación trabajos científicos**

1. Adquirir hábitos de lectura, redacción y exposición de trabajos científicos.
2. Desarrollo de los métodos de adquisición, interpretación y análisis de la información biológica, mediante el estudio de manuales, monografías, ensayos, y sobre todo artículos científicos relevantes.
3. Familiarización con la literatura científica y técnica de vanguardia.
4. Saber realizar búsquedas en las principales bases de datos bibliográficos.

### **VII. Competencias personales relacionadas con la pruebas escritas y exámenes.**

1. Demostrar los conocimientos adquiridos.
2. Expresarse adecuadamente en términos científicos y utilizar la nomenclatura y terminología específica.

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

### 5. CONTENIDOS DE LA ASIGNATURA (TEMARIO)

#### TEMARIO RESUMIDO

##### **TEMA I. Control espacio-temporal de la expresión génica.**

Parte I. Introducción (complejidad de los genomas)

Parte II. Epigenética.

Parte III. Arquitectura nuclear y regulación de la expresión génica.

##### **TEMA II. Control del ciclo celular eucariota.**

Parte I. Control de la división celular.

Parte II. El huso mitótico como diana antitumoral.

##### **TEMA III. Morfogénesis celular.**

##### **TEMA IV. Introducción al desarrollo.**

#### PRÁCTICAS:

**Práctica I.** Análisis de mutantes condicionales en genes que controlan el ciclo celular y la morfogénesis en la levadura de fisión *S. pombe*.

Resumen

La idea de esta práctica es conocer el ciclo celular y la morfogénesis mediante el análisis de una colección de mutantes de ciclo celular, (mutantes deficientes en alguna transición del ciclo celular) y mutantes en morfogénesis (mutantes en genes que determinan la forma celular). Mediante el análisis de estos mutantes diseñaremos rutas génicas que expliquen los fenotipos observados y discutiremos las consecuencias de un mal funcionamiento de los mecanismos de control de ambos procesos.

**Práctica II.** Disección de la ruta genética de entrada en dauer en *Caenorhabditis elegans* utilizando mutantes condicionales en combinación con ARN de interferencia (RNAi).

Resumen

La técnica de RNA de interferencia permite la inactivación selectiva de un gen o transcrito mediante la expresión de un RNA antisentido del mRNA del gen que se pretende inactivar. Esta técnica se utiliza en muy diversos organismos, pero es especialmente eficaz y fácil de realizar en *C. elegans*. El fenotipo a estudiar será la formación de *dauer*, un estadio de resistencia de este gusano. Durante el desarrollo de esta práctica utilizaremos conjuntamente RNAi y mutantes termosensibles en la ruta de formación de *dauer* para diseñar una ruta genética que explique los resultados fenotípicos y de epistasia obtenidos.

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

### TEMARIO COMPLETO

#### TEMA I. Control espacio-temporal de la expresión génica

##### 1. Sentido del tema.

En este tema haremos una pequeña incursión en el campo de la epigenética. El término epigenética se refiere a cambios en el fenotipo o cambios en la expresión génica, causado por mecanismos independientes de la secuencia del DNA.

Como breve introducción a este tema se dará una visión global de los genomas y de su incremento en complejidad desde procariontes hasta mamíferos. Dado que la mayor parte del genoma de organismos superiores poseen extensas regiones no codificantes y es en estas secuencias donde se encuentran dispersas normalmente las regiones reguladoras de la expresión génica, en este tema aprenderemos diferentes métodos para identificar estas secuencias.

##### 2. Epígrafes

###### **Parte I. Introducción**

Identificación de regiones reguladoras en los genomas complejos: comparación de secuencias, ensayos funcionales de elemento reguladores, ensayos de hipersensibilidad, geles de retardo e inmuno-precipitación de cromatina.

**Parte II. Epigenética.** Modificaciones de la cromatina. Modificaciones covalentes, islas CpG y metilación del DNA. Modificaciones covalentes de las histonas, acetilación, ubiquitinación, metilación, etc, Modificaciones no covalentes: remodelación de la cromatina, rotación del DNA sobre los nucleosomas y la función de las ATPasas. Mecanismo de exposición lateral de los nucleosomas. Incorporación de variantes de histonas. RNA de interferencia y silenciamiento de la transcripción mediante iRNA.

**Parte III. Arquitectura nuclear y regulación de la expresión génica.** Organización tridimensional de la cromatina. Desregulación de la arquitectura nuclear y progeria. Factorías de transcripción, replicación y reparación. Territorios cromosómicos y su relación con la frecuencia de translocaciones.

##### 3. Materiales para estudiarlo.

Los materiales para trabajar este tema son sobre todo artículos científicos.

En este tema trataremos varias metodologías como ensayos proteína-proteína, la técnica del bisulfito para determinar si una región está o no metilada, ensayos de actividad ATPasa necesaria para girar el DNA sobre los nucleosomas durante el remodelamiento de la cromatina, técnicas de FRAP (recuperación de la fluorescencia tras el quemado de la muestra) para determinar la dinámica de complejos DNA-proteína in vivo, técnica de FRET (transferencia de energía fluorescente resonante) para entender cómo se enrolla el DNA sobre un nucleosoma y su dinámica de asociación-disociación, etc.

##### 4. Método de trabajo aconsejado.

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

Este es un tema extenso y variado en el que lo más novedoso es la parte de la epigenética. Por esa razón se proponen varias lecturas sobre el tema en forma de artículos especializados. La lectura de toda esta información debe, lógicamente, generar preguntas y dudas que serán resueltas en tutorías.

Los aspectos más básicos del tema 2 pueden ser consultados en los manuales de genética indicados. La metodología necesaria para entender los conceptos de este tema se explicará detenidamente en clase. Se propondrá una serie de problemas casi exclusiva sobre este tema que se dejará en el sitio webCT y se resolverá en clase.

### 5. Actividades a desarrollar

Una de las actividades de este tema será resolver problemas experimentales usando los conceptos teóricos vistos en clase y en la bibliografía de apoyo.

### 6. Competencias que se van a trabajar

La competencia que se va a trabajar en esta parte del temario es la resolución de problemas relacionados con la regulación de la expresión génica. Además es muy importante adquirir nuevos conocimientos de epigenética.

### 7. Dificultades principales

La dificultad principal de este tema es asimilar los conceptos de epigenética que normalmente son nuevos para todos. Para hacer esto más llevadero se proponen numerosas lecturas complementarias y, por supuesto, las tutorías que sean necesarias.

### 8. Bibliografía

8.1. Bibliografía básica para ampliar el tema.

1. Genética. Un enfoque conceptual. 2ª Edición. Pierce. En el capítulo 14 y 15 hay información sobre maduración de mRNA, y control traduccional.

2. Genética. Un enfoque conceptual. 2ª Edición. Pierce.

El capítulo 16 trata sobre regulación de la expresión génica haciendo especial interés en procariotas y por lo tanto complementa perfectamente lo que se ve en clase. Este texto además presenta numerosas figuras que hacen más fácil el entendimiento de la materia que se trata.

3. Klug W.S. Cummings, M.R. y Spencer C.A. 2006 “Conceptos de Genética”. Prentice Hall 2006. Capítulos 18 y 19 tratan la regulación de la expresión génica procariota y eucariota respectivamente.

4. Lewin B. Genes VII. Marbán, cop. 2003.

8.2. Bibliografía más específica para profundizar sobre el tema.

1. Evolution of genome size: new approaches to an old problem. TRENDS in Genetics Vol.17 No.1 January 2001

2. Geles de retardo. EMSA or Gel Shift technique.

3. Footprinting: A method for determining the sequence selectivity, affinity and kinetics of

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

DNA-binding ligands. Andrew J. Hampshire, David A. Rusling, Victoria J. Broughton-Head, Keith R. Fox. *Methods* 42 (2007) 128–140

4. Structure, function and evolution of CpG island promoters. F. Antequera. (2003) *Cell. Mol. Life Sci.* 60 1647–1658.

5. Regulated Unproductive Splicing and Translation (RUST). Brenner Computational Biology Research Group. <http://compbio.berkeley.edu/people/ed/rust>

6. Nonsense-mediated mRNA decay: terminating erroneous gene expression. K. E Baker and R. Parke. *Current Opinion in Cell Biology* 2004, 16:293–299

Epigenética. Recomendando un monográfico que la prestigiosa revista *Cell* publicó en febrero de 2007. En este número de *Cell* los máximos expertos en el tema dan su visión actual sobre la epigenética.

7. Epigenetics: A Landscape Takes Shape

A. D. Goldberg, C. D. Allis, and E. Bernstein. 2007. *Cell* 128, 635–638

8. Noncoding RNAs and Gene Silencing. M. Zaratiegui, D. V. Irvine, and R. A. Martienssen. 2007. *Cell* 128, 763–776,

9. Chromatin Modifications and Their Function. T. Kouzarides. 2007 *Cell* 128, 693–705. 2007

10. Beyond the Sequence: Cellular Organization of Genome Function T. Misteli. 2007. *Cell* 128, 787–800.

11. The Dynamics of Chromatin Remodeling at Promoters. J. Mellor. 2005. *Molecular Cell*, Vol. 19, 147–157.

12. From Silencing to Gene Expression: Real-Time Analysis in Single Cells. Janicki et al. 2004. *Cell*, Vol. 116, 683–698.

### **TEMA II. Control del ciclo celular eucariota.**

#### 1. Sentido del tema.

El control del ciclo celular eucariota que tiene una enorme repercusión en el campo de la biomedicina especialmente en relación con el cáncer. En este tema estudiaremos a nivel molecular los mecanismos de control del ciclo celular y los sistemas de vigilancia o *checkpoints*.

El tema III tendrá una práctica asociada en el que se trabajaran los principales aspectos teóricos y metodología del tema de forma práctica. Este tema está organizado temporalmente para poder realizar la práctica antes que la teoría, de esta forma simularemos como se descubrieron los principales hitos del control del ciclo celular sin información previa, siguiendo el método científico o método deductivo para luego ir viendo los conceptos teóricos en clase junto con el estudio de la bibliografía aconsejada.

#### 2. Epígrafes.

Universalidad de la maquinaria de control del ciclo celular. Complejos CDK-ciclinas. Función de las ciclinas en reconocimiento del sustrato y localización subcelular del complejo CDK-Ciclina. Inhibidores de complejos CDK-ciclinas o CKIs. Control de la

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

actividad CDK-ciclina por fosforilación-defosforilación. Modelo cuantitativo de control del ciclo celular. Puntos de control o “check-points” del ciclo celular. Desregulación del control del ciclo celular y Cáncer.

### **Parte II. El huso mitótico como diana antitumoral.**

Estructura y ensamble del huso mitótico. El cinetocoro y la maquinaria molecular de la captura y segregación de los cromosomas. El mecanismo molecular del checkpoint del huso. El huso mitótico como diana de agentes terapéuticos en el tratamiento del cáncer.

### 3. Materiales para estudiarlo

En el año 2001 tres científicos, dos del Reino Unido y uno de Estados Unidos, recibieron el premio Nobel de fisiología y medicina por sus aportaciones al conocimiento de la maquinaria molecular que controla la división celular. Como material de estudio os propongo que conozcáis las lecciones magistrales que dieron sendos científicos durante la entrega de premios. Destaco una frase del científico que acuñó el término *checkpoint*, Leland Hartwell, que empezó su lección magistral diciendo: “*My research career has been motivated by a desire to understand cancer*”.

En este tema además de los manuales y la bibliografía específica que se indicaran más adelante contaremos con un video en el que Gerald Fink, un prestigioso experto en el control del ciclo celular (<http://www.wi.mit.edu/research/faculty/fink.html>), nos da una visión histórica del descubrimiento de nuevos genes que controlan el ciclo celular mediante el aislamiento de mutantes termosensibles. Aunque el video se presenta en Inglés, al ser un video didáctico es fácilmente entendible. Además se podrá interrumpir para aclarar cualquier duda de cualquier tipo.

### 4. Método de trabajo aconsejado

En este tema contamos con la posibilidad de hacer una práctica relacionada lo que nos permite abordar este tema de forma diferente. La práctica precede cronológicamente al inicio del tema en clase por lo que, sin mucha información previa, nos acercaremos de forma deductiva y siguiendo el método científico a los genes que controlan el ciclo celular. Para ello, trabajaremos con una colección de mutantes que presentan defectos en diferentes puntos de control del ciclo celular. Deduiremos cuáles son los puntos de control del ciclo celular y estudiaremos los defectos de control del ciclo celular asociados a la falta de función de cada uno de ellos. Posteriormente estudiaremos la cinética de acumulación y destrucción de un regulador clave del ciclo celular en un microscopio de fluorescencia usando una fusión de este regulador a la proteína verde fluorescente (GFP). Este análisis nos va a servir para reforzar algunas ideas transmitidas en el tema de regulación de la expresión génica.

### 5. Actividades a desarrollar

La principal actividad a realizar en este tema es la práctica en la que habrá que responder a un cuestionario al final de la misma.

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

### 6. Competencias que se van a trabajar

Una de las competencias que se pretende desarrollar en este tema es la determinación de en qué momento del ciclo celular esta bloqueada o enriquecida una población celular. Para ello combinaremos los datos extraídos de prácticas con otros que se verán en las clases teóricas.

### 7. Dificultades principales

Este tema no tiene grandes dificultades pero es muy importante, dado que el ciclo celular lo estudiamos usando varios organismos modelo, que no se mezclen las ideas y mecanismos que pueden ser diferentes entre distintos organismos.

### 8. Bibliografía

#### 8.1. Bibliografía específica para profundizar sobre el tema

1. "The cell cycle control. Principles of control". David O. Morgan. Oxford University Press 2007. Este texto aporta una visión molecular detallada y totalmente actual de los mecanismos que controlan la división celular y su coordinación con el crecimiento celular. Los temas 1-4 tratan sobre los aspectos básicos del control del ciclo celular. El tema 5 la entrada en mitosis. En el capítulo 6-7 se trata el ensamblaje del huso mitótico y la salida de mitosis en gran detalle. El tema 8 trata de la citocinesis. En el capítulo 12 se da una visión actual de las moléculas y mecanismos cuya alteración resulta en la transformación de una célula normal en cancerosa.

2. Cell cycle kinases as therapeutic targets for cancer (2009). Lapenna S, Giordano A.. Nat Rev Drug Discov. (7):547-66.

3. Whole chromosome instability and cancer: a complex relationship (2008). Ricke RM, van Ree JH, van Deursen JM. Trends Genet. (9):457-66

4. Boveri revisited: chromosomal instability, aneuploidy and tumorigenesis (2009). Holland AJ, Cleveland DW. Nat Rev Mol Cell Biol. (7):478-87.

5. p65cdc18 plays a major role controlling the initiation of DNA replication in fission yeast (1995). Nishitani H, Nurse P. Cell. 83(3):397-405.

6. Cell cycle regulation of DNA replication (2007). Sclafani RA, Holzen TM. Annu Rev Genet. 41:237-80.

### **TEMA III. Morfogénesis celular.**

#### 1. Sentido del tema.

En este tema estudiaremos los factores que determinan la generación de una forma celular determinada. En este tema combinaremos experimentos e ideas básicas obtenidas del estudio y caracterización molecular de mutantes de levaduras con experimentos realizados en neuronas. La alteración de la forma de las neuronas como, por ejemplo, en el número y distribución de sus ramificaciones, suelen tener un impacto muy importante es su actividad y supervivencia.

El Alzheimer es una enfermedad relativamente nueva y cuya etiología la encontramos

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

en un colapso del transporte citoplasmático, lo que resulta en la degeneración de los axones y la pérdida de actividad neuronal. También revisamos en este tema la enorme importancia que tiene la morfogénesis, la arquitectura celular y el transporte citoplasmático mediado por proteínas motoras, en la memoria. Estudiaremos la motilidad celular, y su repercusión en desarrollo normal de un individuo y en el desarrollo y malignidad de los tumores. Las capacidades cognitivas y sus enfermedades asociadas, la neuro-degeneración o el cáncer son potenciales temas de presente y sobre todo futuro desarrollo biotecnológico, y es por ello por lo que en este tema se pretende revisar algunos conceptos e ideas a nivel molecular que puedan servir de estímulo intelectual y motivación al estudiante.

El tema III tendrá una práctica asociada (ver apartado Prácticas). En esta práctica se trabajarán los principales aspectos teóricos y la metodología del tema de forma práctica. Este tema está organizado temporalmente para poder realizar la práctica antes que la teoría, de esta forma simularemos como se descubrieron los principales genes responsables de la forma celular en levaduras para posteriormente ir viendo los conceptos teóricos en clase y mediante el estudio de la bibliografía aconsejada.

### 2. Epígrafes.

Papel del citoesqueleto en el posicionamiento de estructuras celulares y en la determinación de los sitios de crecimiento celular y división. Estructura y dinámica de los microtúbulos. Función del citoesqueleto de Actina en citocinesis y migración celular. Maquinaria y regulación espacio-temporal de la polimerización de actina. Forminas. Complejos ARP2-3. Generación de fuerza mediante polimerización de actina. Alteración de la polimerización de la actina: Síndrome de Wiskott-Aldrich. Función del citoesqueleto de actina en la propulsión de listeria y en endocitosis. Proteínas motoras: miosina II, miosina V, quinesinas y dineina. Transporte neuronal, implicaciones en memoria. Alteración del transporte neuronal, degeneración celular y Alzheimer.

### 3. Materiales para estudiarlo

En esta parte del temario se estudian procesos muy dinámicos y muchos de los datos experimentales que se muestran están tomados gracias a la video microscopía, por lo que en clase se verán numerosos videos en los que se mostraran experimentos que han sido pioneros en el campo. Además, trabajaremos con nuestras propias manos caracterizando mutantes de morfogénesis en la práctica de laboratorio que se ha diseñado para complementar esta parte del temario.

### 4. Método de trabajo aconsejado

El método de estudio de este tema es similar al anterior: primero mediante la caracterización de mutantes de morfogénesis en la práctica surgirán numerosas preguntas e ideas que más tarde se irán viendo en las clases teóricas. A su vez, las clases teóricas podrán ser complementadas con el material bibliográfico de apoyo para

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

aquellos estudiantes que deseen profundizar más en el tema.

### 5. Actividades a desarrollar

La principal actividad a realizar en este tema es la práctica en la que habrá que responder a un cuestionario al final de la misma.

### 6. Competencias que se van a trabajar

Los estudiantes deben ser capaces en este tema de entender y distinguir los distintos polímeros celulares, conocer su función biológica, sus propiedades dinámicas, las moléculas motoras que viajan por ellos y las repercusiones que tienen mutaciones en los genes que lo forman o que controlan su ensamblaje y / o dinámica. Los estudiantes deben ser capaces de entender a nivel molecular qué ocurre en una enfermedad como el Alzheimer.

### 7. Dificultades principales

La dificultad principal de este tema es integrar los conceptos extraídos de modelos más simples como las levaduras, con los de células animales. Otra dificultad, motivada por la novedad conceptual al que se expone a los estudiantes en este tema, podría ser entender cómo ciertas moléculas y / o polímeros pueden generar fuerza y que esta fuerza la célula la usa para posicionar o mover estructuras u orgánulos celulares.

### 8. Bibliografía

#### 8.1. Bibliografía específica para profundizar sobre el tema

1. Tau is actin up in Alzheimer's disease. (2007). Gallo G. Nat Cell Biol. (2):133-4.
- 2 Dynamics and mechanics of the microtubule plus end. (2003). Joe Howard & Anthony A. Hyman. Nature Vol 422
3. Progressing actin: Formin as a processive elongation machine. (2004). David R. Kovar and Thomas D. Pollard. Nat Cell Biol. Vol 6.
4. Force Generation by Microtubule Assembly / Disassembly in Mitosis and Related Movements. (1995). Molecular Biology of the Cell Vol. 6, 1619-1640. Shinya Inoue and Edward D. Salmon.

## **TEMA IV. Introducción al desarrollo.**

### 1. Sentido del tema.

La biología del desarrollo es actualmente uno de los campos de investigación de relevancia en nuestro país. En este tema se pretende dar una visión general sobre algunos de los procesos básicos del desarrollo de un organismo que sirva al estudiante de estímulo para acercarse a este campo de la biología donde, además de la investigación básica, hay un campo enorme para el desarrollo biotecnológico.

El tema IV tendrá una práctica completa asociada como se indica en el esquema del tema. En esta práctica usaremos el nemátodo *C. elegans* como organismo modelo para conocer como durante el desarrollo de este organismo y en función de las condiciones

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

nutricionales en que se encuentre, se toma la decisión de proseguir con el desarrollo normal hasta formar el organismo adulto o se activa un programa de resistencia en el que no se completa el desarrollo. Usando varios mutantes termosensibles en las rutas genéticas que determinan una u otra decisión y la tecnología del RNA de interferencia (iRNA) se generaran combinaciones de falta de función de genes clave en estas rutas que nos permitirán reconstruir, a partir de los datos obtenidos, las rutas genéticas y el orden que ocupan los genes de estudio en estas rutas.

### 2. Epígrafes.

Rotura de la asimetría tras la fertilización y polarización del embrión en *C. elegans*. Determinación del eje antero-posterior en embriones de *C. elegans*. Polarización de Par2-Par3 y de los gránulos P. Mecanismos que generan la división asimétrica en el estadio de una célula. Linajes celulares en *C. elegans*. Generación de los ejes antero-posterior y dorso-ventral en el huevo de *Drosophila melanogaster*. Gradiente de morfógenos. Genes homeóticos.

### 3. Materiales para estudiarlo

Además de la bibliografía para este tema os propongo varios sitios web para profundizar más en algunos de los epígrafes que se tratan en el mismo:

Sitio web donde poder profundizar y aprender más sobre linajes celulares:  
<http://www.wormclassroom.org/Modules/CellLineage/clCE.html>.

Sitio web para consultar el desarrollo de *Drosophila*:  
<http://flymove.unimuenster.de/Homepage.html>.

### 4. Método de trabajo aconsejado

Junto con las clases teóricas se verán artículos científicos que sirvan de apoyo a las mismas. Esta información se complementará con la práctica.

### 5. Actividades a desarrollar

La principal actividad a realizar en este tema es la práctica en la que habrá que responder a un cuestionario al final de la misma.

El Centro Andaluz de Biología del Desarrollo que se encuentra en el campus de la UPO cuenta con un día de puertas abiertas y puede ser una buena oportunidad para visitarlo, conocer sus instalaciones y recursos y conocer las distintas líneas de investigación que se están desarrollando en la actualidad.

Como actividad complementaria, es posible que podamos contar en este tema con algún experto del campo de la biología del desarrollo para que nos dé un seminario específico y podamos establecer turno de preguntas y discusión.

### 6. Competencias que se van a trabajar

Los estudiantes deberán conocer conceptualmente cómo se polariza un huevo, cómo se

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

rompe la simetría para establecer los ejes polaridad, qué son los morfógenos, qué son los linajes celulares. Además, los estudiantes deberán ser capaces de distinguir las distintas fases larvarias de *C. elegans* e identificar individuos que han activado el programa de resistencia o programa *dauer*. Los estudiantes deberán ser capaces de construir rutas genéticas basados en los fenotipos de la combinación de mutantes termosensibles y la inactivación génica mediante la técnica del RNA de interferencia.

### 7. Dificultades principales

Este tema habrá que integrar información que hemos visto hasta ahora en el temario como la regulación de la expresión génica o el control de la proliferación celular, con nuevas ideas como la comunicación célula-célula o los gradientes de morfógenos que van a generar dominios o linajes específicos comprometidos con un destino celular específico. Así mismo, algunos de los principios que hemos visto de organización celular y polaridad ahora los veremos en la organización del huevo donde hay que especificar, por ejemplo, los ejes dorso ventral y antero-posterior. Veremos que las moléculas y mecanismos de especificación y organización espacial son básicamente los mismos que a nivel subcelular pero el grado de complejidad es mucho mayor.

### 8. Bibliografía

8.1. Bibliografía básica para ampliar el tema.

Griffiths y col. "Genética" Mc Graw Hill 2000, tiene dos temas (22 y 23) dedicados a la genética del desarrollo donde se podrá consultar y profundizar más en alguno de los aspectos vistos en clase.

8.2. Bibliografía más específica para profundizar sobre el tema

1. From signals to patterns: space, time, and mathematics in developmental biology (2009). Lewis J. Science, 322:399-403.

2. The origin of pattern and polarity in the Drosophila embryo (1992). St Johnston D, Nüsslein-Volhard C. Cell. 68(2):201-19.

3. "Cell Determination" and "Cell Lineage" (2000). Chisholm, A.D. Chapters on in The Encyclopedia of Genetics. Academic Press.

## **PRACTICAS:**

**Práctica I.** Análisis de mutantes condicionales en genes que controlan el ciclo celular y la morfogénesis en la levadura de fisión *S. pombe*.

Resumen

La idea de esta práctica es conocer el ciclo celular y la morfogénesis mediante el análisis de una colección de mutantes de ciclo celular, (mutantes deficientes en alguna transición del ciclo celular o que la aceleran) y mutantes en morfogénesis (mutantes en genes que determinan la forma celular). Mediante el análisis de estos mutantes diseñaremos rutas génicas que expliquen los fenotipos observados y discutiremos las

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

consecuencias de un mal funcionamiento de estos mecanismos.

La práctica consta de dos partes:

1. Análisis de mutantes condicionales en genes que controlan el ciclo celular y la morfogénesis en la levadura de fisión *Schizosaccharomyces pombe*.
2. Análisis de la cinética de acumulación nuclear de un regulador de ciclo celular.

### **Introducción**

#### 1. Control del ciclo celular

La proliferación celular ocurre gracias a una elaborada red de proteínas que permiten que los cromosomas y otros componentes celulares sean duplicados y después repartidos entre dos células hijas. La progresión por el ciclo celular, el orden de los distintos eventos, así como la decisión de iniciar o no un nuevo ciclo de división está regulada por una intrincada red de proteínas reguladoras. Todos los organismos vivos unicelulares o pluricelulares poseen mecanismos que controlan el proceso de división celular. Los organismos unicelulares, siempre que las condiciones del medio sean favorables, se dividen hasta que se acaban los nutrientes disponibles. En organismos pluricelulares, en los que hay más de 200 tipos celulares distintos, unas células o tejidos se dividen con bastante frecuencia, como por ejemplo las células hematopoyéticas, mientras otras dejan de dividirse muy pronto en el desarrollo y no se dividen nunca más, como son las neuronas.

La desregulación de la proliferación celular puede producir la transformación celular y el origen de un cáncer por lo que el estudio del control del ciclo celular es uno de los temas de investigación más relevantes en la actualidad.

Gran parte de los avances en el conocimiento del ciclo celular eucariota se han obtenido gracias al estudio de organismos modelo como las levaduras. A principios de los años 90 se hizo un descubrimiento que fue clave para la humanidad. Unos científicos británicos consiguieron que una levadura que tenía mutado un gen esencial para dividirse lo hiciera cuando sustituían el gen mutado por el equivalente humano. A partir de este descubrimiento se supo que el control de la división celular era universal, esto es, todos los organismos eucariotas se dividen usando más o menos la misma maquinaria de regulación.

Durante la progresión por el ciclo de división celular, la célula duplica primero su material genético, durante la fase de Síntesis, y más tarde, durante Mitosis, segrega (“reparte”) la información genética entre las dos células hijas. El ciclo celular se completa con la partición de la célula madre en dos células hijas: este proceso se conoce como Citocinesis. Las fases de síntesis y mitosis están separadas temporalmente por dos periodos de tiempo que se conocen como G1 y G2 (del inglés Gap). El periodo entre la fase S y M se conoce como G2 y el tiempo que transcurre entre M y fase S se conoce como G1. Durante estos “gaps” las células se preparan para la siguiente fase del ciclo celular.

El orden temporal de estos eventos es clave para la supervivencia celular y la célula cuenta con mecanismos de control que aseguran este orden. Durante el ciclo celular, no

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

sólo se duplica la información genética, también se duplica la masa celular y ambos procesos deben estar coordinados de algún modo para evitar, por ejemplo, que una célula se divida sin duplicar su información genética o su masa.

Una célula tiene por tanto que 1) decidir si se divide o no en función de determinadas señales, 2) ordenar los eventos de división de modo que la duplicación del DNA preceda a la segregación, la citocinesis ocurra sólo cuando ambos eventos hayan ocurrido, etc. y 3) coordinar la división y segregación del DNA con el crecimiento celular. Pero, ¿Cómo regula la célula estos procesos a nivel molecular?

La progresión a lo largo del ciclo celular está controlada en varios puntos de control o transiciones. Durante el ciclo celular hay tres puntos de control claves para la supervivencia celular, la primera es la transición G1/S, la célula decide si entra en fase S o no, la transición G2/M, las células deciden si entran en mitosis y segregan el DNA y la tercera es la transición Metafase/Anafase durante mitosis, donde se decide si la célula está preparada o no para hacer citocinesis. Estas decisiones dependen normalmente de que eventos previos a cada transición se hayan completado con éxito.

Las búsquedas genéticas de mutantes de ciclo celular incapaces de hacer cualquiera de estas transiciones han permitido la identificación de numerosos genes reguladores necesarios para cada punto de control del ciclo. La mayoría de los genes que controlan el ciclo celular son esenciales (en su ausencia la levadura se muere) por lo que los mutantes fueron seleccionados como mutantes condicionales, por ejemplo, mutantes que a una temperatura (temperatura permisiva) presentan un fenotipo silvestre y a otra (temperatura restrictiva) un fenotipo letal de ciclo celular o cdc-.

### 2. Morfogénesis celular

La células eucariotas pueden adquirir múltiples formas y cada una ellas está optimizada para realizar una determinada función. Una forma celular determinada se consigue polarizando el crecimiento celular. La alteración de la polaridad, y consiguientemente la forma celular, puede conllevar, por ejemplo a que las células pierdan sus propiedades de adhesión y se escapen de un tejido, lo que suele tener dramáticas consecuencias para el organismo. En contraste con el crecimiento isotrópico, en el que la célula crece por adición de nuevas membranas a cualquier parte de la célula, durante el crecimiento polarizado, toda la adición de membrana está dirigida a los sitios de crecimiento.

### 3. *Schizosaccharomyces pombe* como organismo modelo

En esta práctica vamos a utilizar la levadura de fisión *Schizosaccharomyces pombe* como organismo modelo eucariótico para estudiar el control del ciclo celular y la morfogénesis. *S. pombe* tiene forma cilíndrica y crece por extensión de las puntas hasta que alcanza un tamaño máximo de unas 14 micras, momento en el que activa la entrada en mitosis y posteriormente la citocinesis. Tras la citocinesis las células se dividen simétricamente generando dos células hijas de idéntico tamaño. Esta levadura ha emergido en los últimos años como organismo modelo porque es un organismo simple de manejar en el laboratorio, permite el análisis genético, se conoce su genoma completo, y presenta un mayor parentesco con células animales que la levadura de

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

gemación *S. cerevisiae*, (el organismo modelo eucariota mejor estudiado hasta la fecha). Durante la mayor parte de su ciclo de vida *S. pombe* crece y se divide como un organismo haploide, y tiene por tanto una sola copia de todo su material genético. En condiciones nutricionales pobres, *S. pombe* deja de proliferar y activa un programa de diferenciación sexual. Dos células de distinto sexo se encuentran, conjugan y forman un cigoto diploide. Este cigoto entra en meiosis y se produce la recombinación y reparto de la información genética en cuatro células de resistencia, llamados ascosporas que son de nuevo haploides. Las ascosporas germinan cuando las condiciones nutricionales son de nuevo favorables o alguna de las combinaciones génicas resultantes de la meiosis permite crecer en las condiciones adversas que indujeron el programa de diferenciación sexual dando comienzo a un nuevo ciclo.

Usando *S. pombe* como organismo modelo y estrategias genéticas similares a las que se emplearon para aislar mutantes de ciclo celular, se han aislado múltiples mutantes de morfogénesis. La clonación y caracterización de estos mutantes nos están permitiendo entender cómo se polariza una célula para adquirir una determinada forma.

### Objetivo

El objetivo de la práctica consiste en el análisis fenotípico de una serie de mutantes condicionales de genes reguladores del control del ciclo celular y la morfogénesis. Mediante la visualización al microscopio de los mutantes en diferentes condiciones, el uso de varias tinciones, así como de información extra que se os va a suministrar, vamos a inferir en qué momento del ciclo se quedan bloqueados cada uno de los mutantes. Con esos datos propondremos una ruta de control del ciclo celular.

### 4. Metodología

Día 0. Inocular los distintos mutantes a 25°C y crecer durante unas 12 horas.

Día 1.

1. Inocular los distintos mutantes a la temperatura permisiva de 25°C y a la temperatura restrictiva de 36°C durante 4-6 horas.

2. Centrifugar 500µl de cultivo durante 1 minuto a 13,000 rpm, resuspender en 5µl del mismo medio y poner 2µl en una porta objetos. Observar al microscopio y anotar fenotipo en la tabla suministrada.

3. Algunos componentes de cada grupo va a realizar además una tinción específica de núcleos (DAPI) y una tinción de septos (Calcoflúor) de los distintos mutantes. Los datos se compartirán con el resto del grupo.

Protocolo para la tinción de septos y sitios de crecimiento mediante Calcoflúor.

1. Recoger en un eppendorf 500µl de cultivo de los mutantes 0, 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9 crecidos a temperatura restrictiva.

2. Añadir 5 µl de Calcofluor (3.5 mg/ml, 100X).

3. Centrifugar 1 min. a 13,000 rpm para concentrar la muestra

4. Eliminar el sobrenadante dejando 4-5 µl de la muestra en la base del eppendorf.

5. Poner 2µl en un portaobjetos y colocar el cubreobjetos (no mover el

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

cubreobjetos una vez esté en contacto con la muestra).

6. Observar al microscopio de fluorescencia.

Protocolo tinción de núcleos mediante DAPI.

1. Recoger en un eppendorf 500µl de cultivo de los mutantes 0, 2, 3, 4, 5, 6. crecidos a temperatura restrictiva.

2. Centrifugar 1 min. a 13,000 rpm, eliminar la mayoría del sobrenadante y resuspender las células en los restantes 5-10µl de la muestra.

3. Añadir 100µl de Etanol al 70% para fijar las células y dejar 1-2 minutos para la completa fijación.

4. Recoger 5-10 µl del precipitado de células y poner en un cubreobjetos y dejar secar la muestra completamente.

5. Añadir 2µl de DAPI (5mg/ml) y poner el cubreobjetos (no mover el cubreobjetos una vez esté en contacto con la muestra).

6. Observar al microscopio de fluorescencia.

Análisis de FACS (*Fluorescence Activated Cell Sorting*) de los distintos mutantes.

La técnica de citometría de flujo permite la identificación del momento del ciclo celular que está una población de células determinada.

Día 2.

B. Análisis de la cinética de acumulación nuclear de un regulador de ciclo celular.

Se entregará a cada grupo unas imágenes en la que se muestra un cultivo asincrónico de *S. Pombe* expresando uno de los reguladores clave para el control del ciclo celular fusionado a GFP. Analizando el patrón de expresión a lo largo del ciclo celular podremos inferir de que tipo de regulador se trata.

**Práctica II.** Disección de la ruta genética de entrada en dauer en *Caenorhabditis elegans* utilizando mutantes condicionales en combinación con ARN de interferencia (RNAi).

Resumen

La técnica de RNA de interferencia permite la inactivación selectiva de un gen o transcrito mediante la expresión de un RNA antisentido del mRNA del gen que se pretende inactivar. Esta técnica se utiliza en muy diversos organismos, pero es especialmente eficaz y fácil de realizar en *C. elegans*. El fenotipo a estudiar será la formación de dauer, un estadio de resistencia de este gusano. Durante el desarrollo de esta práctica utilizaremos conjuntamente RNAi y mutantes termosensibles en la ruta de formación de *dauer* para diseñar una ruta genética que explique los resultados fenotípicos y de epistasia obtenidos.

Introducción

El estudio de mutantes es la herramienta básica de la Genética. Ante la pregunta de cómo funciona una cosa, la aproximación más eficaz casi siempre ha sido estropearlo. Este ha sido el camino de la Genética clásica en la que, estudiando mutaciones

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

espontáneas o provocadas, se han podido dilucidar el papel que tenían los productos de los genes mutados en los organismos estudiados.

*Caenorhabditis elegans* como organismo modelo

*C. elegans* es un organismo modelo al igual que lo son *D. melanogaster* o *E. coli*. Su utilización como tal se debe en gran parte al esfuerzo del Premio Nobel de Medicina Sydney Brenner. Por su fácil manejo y sus posibilidades es conocido a veces como el *E. coli* de los organismos pluricelulares.

*C. elegans* es un nematodo de la familia Rhabditidae. El adulto mide aproximadamente 1,5 mm. Tiene alrededor de 1000 células de las cuales más de 300 son células nerviosas. Podemos encontrar tanto hermafroditas, como machos. Su rango de temperatura fisiológico va desde los 15° C al los 25° C. Durante su desarrollo larvario pasa por 4 estadios L1, L2, L3 y L4 antes de convertirse en un adulto (Figura 11). Un gusano adulto vive como media 15 días y durante su periodo fértil, que corresponde a los primeros días de su vida adulta, puede llegar a poner de 300 y 1000 huevos. Se encuentran generalmente en el suelo y se han hecho aislamientos de *C. elegans* prácticamente en todas las partes del mundo. Es posible cultivarlo tanto en medio líquido como en sólido y puede congelarse.

El estadio de resistencia de *C. elegans* o estadio *Dauer*

Existe un estadio de desarrollo larvario especial conocido como fase dauer. Es una forma de resistencia. Cuando las condiciones son adversas (poca comida y sobrepoblación) un *C. elegans* en fase L1 puede tomar la decisión de seguir un desarrollo normal o entrar en dauer, previo paso por un estadio L2 especial (L2d) (Figura 11). Así, la fase *dauer* sería equivalente al L3 del desarrollo habitual. Los individuos en un estadio *dauer* puede pasar varios meses sin alimentarse, siendo más resistente a diferentes estreses como la desecación o la temperatura. Cuando las condiciones vuelven a ser favorables estos individuos pueden retomar su desarrollo habitual y entrar en L4 para continuar con una vida adulta indistinguible de la de un gusano que no haya pasado por dicho estadio. El control genético de este fenómeno ha sido estudiado en profundidad.

### La técnica del RNA de interferencia o iRNA.

El fenómeno de la interferencia por ARN se conoce desde hace relativamente poco tiempo. Durante los años 80 se publicaron algunos artículos en los que la expresión de ARN antisentido de un gen en células de plantas provocaba la inhibición de la expresión del propio gen. Más tarde, se describieron algunos fenómenos conocidos como silenciamiento génico de los que no se conocía bien ni el mecanismo ni la causa que lo provocaba. La primera publicación en la que se utiliza ARN de doble cadena para controlar la expresión génica es de 1998. Fire y Mello publicaron un artículo titulado: “*Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in Caenorhabditis elegans*”. Inyectando ARN de doble cadena conseguían interferir la expresión de un gen. Más tarde los propios autores se dieron cuenta de que si le daban de comer a los gusanos bacterias que estuvieran sintetizando el mencionado ARN de doble cadena,

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

también se producía el mismo fenómeno. Este trabajo les ha valido a estos investigadores el Nobel de Fisiología y Medicina.

Con este sistema de interferencia es posible conseguir mutantes transitorios para un determinado gen de interés; se habla de *knockdown*, por analogía con el término *knockout* que se utiliza para un mutante de pérdida de función total. La potencia de este sistema es tremenda, porque de una manera rápida y sencilla podemos hacer estudios de genética (inactivamos un gen y vemos qué pasa) sin tener que fabricar o buscar el mutante. Además en la actualidad existen bibliotecas de RNAi en las que están representadas la mayoría de los genes de *C. elegans* con lo que solo tenemos que descongelar la bacteria que contenga el clon que nos interesa y hacer nuestro experimento. Además, estas bibliotecas nos permite hacer búsquedas masivas a lo largo de todos los genes representados en ella para ver si participan en algún proceso concreto. Podríamos ver, por ejemplo, todos los genes cuyo *knockdown* inducen el estadio *dauer* de forma constitutiva y los que nunca lo inducen en las condiciones fisiológicas en que debería hacerlo.

La interferencia mediante ARN es un fenómeno celular normal ampliamente utilizado por todos los organismos. Los iRNAs funcionarían como elemento regulador, aunque también podrían tener una función en la lucha contra las infecciones víricas. Actualmente existe un gran interés biotecnológico en este campo por las posibles aplicaciones terapéuticas de esta tecnología.

Objetivo: Diseñar una ruta genética que explique los fenotipos observados en relación a la formación de *dauer* en las diferentes condiciones y combinación de mutantes

Durante la práctica vamos a utilizar cepas mutantes que tienen afectados genes importantes para la regulación de la formación de *dauer*. Tendremos 3 cepas: N2 que es la cepa silvestre, mutante-2 (m577) y mutante-7 que forman *dauer* de una forma constitutiva a pesar de que no se den las condiciones ambientales que provocan la entrada en el estadio *dauer*. Esta entrada constitutiva en *dauer* si es dependiente de temperatura, solo a alta temperatura se da, puesto que los mutantes que usaremos son termosensibles.

Además utilizaremos bacterias que están transformadas con un plásmido que les permite producir grandes cantidades de ARN de doble cadena. Cada una de estas cepas bacterianas producirá un ARN específico para un gen determinado de *C. elegans* y las nombraremos como RNAi más el nombre del propio gen.

Día 1

Protocolo

Cada alumno tendrá 5 placas sembradas con bacterias que producirán 5 RNAi diferentes:

- iRNA-16
- iRNA-5
- iRNA-12

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

- iRNA-440 (control negativo)
- iRNA-22 (control positivo)

En cada una de las placas inocularemos 3 adultos hermafroditas de un mismo tipo de gusano mutante (que podrá ser o mutante-2 o mutante-7). Al menos un par de alumnos utilizaran la cepa silvestre N2 para el experimento, como control. Los gusanos los dejamos creciendo y multiplicándose en una estufa a una temperatura de 25°C.

Día 2.

Revisamos a la lupa los fenotipos de los descendientes de los 3 hermafroditas que colocamos en las placas anotando si observamos *dauers*, adultos o ambos. Más tarde pondremos todos nuestros resultados en común.

## 6. METODOLOGÍA Y RECURSOS

### METODOLOGÍA

Los métodos didácticos se pueden clasificar en varias categorías de acuerdo al tipo de enseñanza que se imparta, estos métodos son:

Tradicional: Lección magistral, prácticas, problemas y seminarios.

PBL: docencia basada en el uso de problemas reales y su resolución para el aprendizaje (problem based learning).

Web: docencia con utilización de la red como soporte para las actividades de alumnos y profesores.

Mixto: Uso de la metodología tradicional y de PBL.

Todos: Cuando se usan los tres tipos básicos: tradicional, PBL y web. Con diferente grado de implantación dependiente del tipo de asignaturas.

De acuerdo con esta clasificación, en la asignatura de Genética Molecular se usa un método didáctico mixto, basado en clases magistrales, prácticas, resolución de problemas y discusión en clase de los resultados y realización y exposición de trabajos científicos.

El uso de la web a través de la herramienta WebCT no se usa como método didáctico en sí, si no, como herramienta de interfase entre los estudiantes y el profesor para compartir contenidos y material didáctico, así como, un método permanente de comunicación que, a veces, es incluso en tiempo real.

Las clases presenciales se realizan en el aula y tienen una duración de unos 50 minutos. Los primeros 5 minutos de cada clase se emplean si es necesario para discutir aspectos de planificación así como para la resolver posibles dudas de la clase anterior.

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

Las clases prácticas se realizan en los laboratorios de prácticas y comienzan con una breve explicación del sentido de la práctica en concreto y una planificación de la misma. Se estimula el trabajo y la reflexión individual pero también el trabajo, la organización y la planificación en grupo, que en definitiva en la forma de trabajo en la mayoría de las empresas y centros de investigación donde los estudiantes recalarán una vez terminen su formación.

Las series de problemas que se resuelven durante el curso pretende fomentar el conocimiento a través del estudio, el análisis y la resolución de los mismos. Aunque no sea el objetivo final, la resolución de problemas también fomenta el trabajo en grupo. La exposición y defensa en clase de la solución a las series de problemas obliga al trabajo y a la reflexión individual. Además de las series de problemas que se entregan al estudiante, se podrán entregar series de problemas extra (que no tienen puntuación) si durante el curso el profesor advierte de alguna laguna de conocimiento en algunos de los aspectos que sean necesarios para entender y razonar sobre cualquier parte de la asignatura.

Los trabajos científicos tienen como objetivo estimular la búsqueda bibliográfica, la selección de artículos científicos y temas de investigación relevantes en la actualidad, la exposición del estudiante a diferentes metodologías experimentales que deben entender e interpretar, primero, y exponer de forma coherente después, así como, un esfuerzo de síntesis, puesto que los trabajos, como hemos visto, tienen una extensión limitada.

Los estudiantes cuentan con la posibilidad de realizar tutorías individuales o en grupo por lo que cuentan durante todo el proceso de aprendizaje con el apoyo constante del profesor.

### **RECURSOS:**

Los estudiantes cuentan con una serie de recursos para cumplir las competencias que de ellos se esperan. Estos recursos son:

1. Aulas para impartición de clases de teoría, seminarios, conferencias, debates, etc.

Las aulas están dotadas de una cañón de vídeo y de un ordenados con acceso directo a internet vía WiFi. En general las clases están bien dotadas, contando con suficiente luz y aireación además de calefacción y aire acondicionado que funcionan con normalidad.

2. Laboratorios de Prácticas

Los laboratorios de prácticas cuentan con una instrumental adecuado y en buenas condiciones. El número de estudiantes por práctica está limitado por ley a 20 por lo que no se producen en ningún momento una masificación del laboratorio

3. Biblioteca

La biblioteca de la UPO además de ser un sitio de lectura y estudio es un sitio de convivencia para muchos estudiantes y es ahí donde se resumen para realizar trabajos en equipo en muchos casos. La biblioteca cuenta con una gran número de manuales de texto disponibles para consulta. Ordenadores de acceso directo a internet y acceso directo a un gran número de revistas científicas. La universidad Pablo de Olavide cuenta con una gran número de suscripciones a revistas científicas de varias disciplinas. El

## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

acceso a estas revistas es gratuito para el estudiante.

### 4. Ordenadores

Los estudiantes cuentan con ordenadores de uso común, además y dado que muchos de ellos tienen sus propios equipos, la UPO posee una conexión inalámbrica a internet via WiFi en todo el campus para dar servicio a esta necesidad.

### 5. Docencia virtual

La UPO tiene en funcionamiento una herramienta didáctica conocida como webCT que provee al profesor y al estudiante de un espacio para interactuar que puede ir desde la docencia virtual completa hasta el uso de esta herramienta como complemento a la interacción in situ y diaria.

## 7. EVALUACIÓN

La asignatura de Genética Molecular se evaluará de forma continua y la nota final será la suma de la nota del examen final y de las notas de las distintas actividades como son las dos series de problemas, un examen corto y la presentación de un trabajo escrito. Las puntuaciones para cada apartado son las siguientes:

Resumen de puntuaciones:

Series de problemas (2 x 0.5)	1 punto
Examen corto	1 punto
Trabajo	1 punto
Evaluación práctica I	1 punto
Evaluación práctica II	1 puntos
Examen final	5 puntos

El aprobado se consigue con 5 puntos.

Examen corto. Este examen consistirá en la resolución en clase y durante unos 45 minutos de uno o dos problemas similares al tipo de problema que se resuelven en la serie de problemas.

Examen final primera convocatoria

El examen final primera convocatoria. consistirá en la resolución de varios problemas parecidos a los que se han resuelto en las series de problemas y examen corto además de varias preguntas. En algunas de estas preguntas se evaluará positivamente la utilización de determinados términos, o palabras clave, previamente seleccionados por el profesor, siempre que el texto tenga sentido y sea coherente.

El examen final, segunda convocatoria. Este examen será del mismo tipo que en la primera convocatoria y se mantendrán todas las notas de la evaluación continua.



## GUÍA DOCENTE

Curso 2013-2014

### 8. BIBLIOGRAFÍA GENERAL

Lewin B. Genes VII. Marbán, cop. 2003.

Klug W.S. Cummings, M.R. y Spencer C.A. 2006 “Conceptos de Genética”. Prentice Hall 2006.

Genética. Un enfoque conceptual. 2ª Edición. Pierce.

The cell cycle control. Principles of control. David O. Morgan. Oxford University Press 2007.

Griffiths y col. “Genética” Mc Graw Hill 2000