



## FICHA IDENTIFICATIVA

### DATOS DE LA ASIGNATURA

**Código:** 43460

**Nombre:** Técnicas de análisis y cuantificación

**Ciclo:** Máster Universitario Oficial / Postgrado Doctorado

**Créditos ECTS:** 4,5

**Curso académico:** 2026-27

### TITULACIONES

Titulación	Centro	Curso	Periodo
2210 - Máster Universitario en Investig. en Biología Molecular, Celular y Genética	Facultat de Ciències Biològiques	1	Primer cuatrimestre

### MATERIAS

Titulación	Materia	Carácter
2210 - Máster Universitario en Investig. en Biología Molecular, Celular y Genética	Técnicas de análisis y cuantificación	OBLIGATORIA

### COORDINACIÓN

ARTERO ALLEPUZ RUBEN DARIO

## RESUMEN

La biología molecular y la bioquímica modernas se ocupan de desentrañar las funciones de los sistemas biológicos. Para ello, utilizan sofisticados métodos que permiten obtener imágenes y datos precisos sobre el funcionamiento celular, sobre la expresión y la estructura de los genes, y sobre las interacciones entre macromoléculas. Técnicas de Análisis y Cuantificación (TAC) es una asignatura multidisciplinar que pretende proporcionar una sólida base a los estudiantes del máster IBMCG con una selección de cuatro bloques metodológicos: técnicas avanzadas de PCR, citometría de flujo, detección in situ de ácidos nucleicos y *splicing* alternativo, y técnicas microscópicas y de análisis de imagen. La asignatura se imparte de forma conjunta entre los departamentos de microbiología, genética y biología celular.

## CONOCIMIENTOS PREVIOS

### RELACIÓN CON OTRAS ASIGNATURAS DE LA MISMA TITULACIÓN

No se han especificado restricciones de matrícula con otras asignaturas del plan de estudios.

## COMPETENCIAS / RESULTADOS DE APRENDIZAJE



## 2210 - Máster Universitario en Investig. en Biología Molecular, Celular y Genética

Capacidad para interpretar los resultados obtenidos de las técnicas más avanzadas de análisis y cuantificación en biología molecular, celular y genética.

Capacidad para preparar y gestionar proyectos de investigación en el ámbito de la biología molecular celular y genética.

Conocer desde un punto de vista práctico los métodos más actuales de marcaje e hibridación de ácidos nucleicos y su aplicación al estudio de la expresión génica in situ.

Conocer los avances recientes en las técnicas microscópicas y de análisis de imagen, PCR cuantitativa y citometría de flujo comprendiendo su utilidad en distintos campos y las limitaciones de su aplicación.

Poseer y comprender conocimientos que aporten una base u oportunidad de ser originales en el desarrollo y/o aplicación de ideas, a menudo en un contexto de investigación.

Que los/las estudiantes posean las habilidades de aprendizaje que les permitan continuar estudiando de un modo que habrá de ser en gran medida autodirigido o autónomo

Que los/las estudiantes sean capaces de integrar conocimientos y enfrentarse a la complejidad de formular juicios a partir de una información que, siendo incompleta o limitada, incluya reflexiones sobre las responsabilidades sociales y éticas vinculadas a la aplicación de sus conocimientos y juicios.

Que los/las estudiantes sepan aplicar los conocimientos adquiridos y su capacidad de resolución de problemas en entornos nuevos o poco conocidos dentro de contextos más amplios (o multidisciplinares) relacionados con su área de estudio.

Que los/las estudiantes sepan comunicar sus conclusiones y los conocimientos y razones últimas que las sustentan a públicos especializados y no especializados de un modo claro y sin ambigüedades.

Ser capaces de acceder a herramientas de información en otras áreas del conocimiento y utilizarlas apropiadamente.

Ser capaces de realizar una toma rápida y eficaz de decisiones en su labor profesional o investigadora.

Ser capaces de trabajar en equipo con eficiencia en su labor profesional o investigadora.

Ser capaces de valorar la necesidad de completar su formación científica, histórica, en lenguas, en informática, en literatura, en ética, social y humana en general, asistiendo a conferencias o cursos y/o realizando actividades complementarias, autoevaluando la aportación que la realización de estas actividades supone para su formación integral.

## DESCRIPCIÓN DE CONTENIDOS

1. Fundamentos de la PCR a tiempo real. Bases químicas de la reacción: tipos de sondas. Diseño y puesta a punto de la reacción: condiciones de reacción y especificidad. Análisis de la curva de disociación. PCR múltiple. Control de amplificación 2. Cuantificación mediante PCR a tiempo real: PCR cuantitativa (qPCR).



Curva estándar como base para cuantificación. Parámetros de cuantificación. Eficiencia de la reacción. Límite de cuantificación. Cuantificación absoluta: método de la curva patrón. Cuantificación con curva patrón relativa. Cuantificación por comparación de CT ( $\Delta\Delta CT$ ) 3. Aplicaciones de qPCR en cuantificación. RT-qPCR: Análisis de expresión. NASBA-qPCR. LAMP-qPCR. Cuantificación de células viables (v-qPCR). PCR digital (dPCR): sistemas, ventajas y aplicaciones 4. Fundamentos de citometría de flujo. Principales sistemas y componentes de un citómetro; tipo de información multiparamétrica obtenida. Fluorocromos y fluorescencia. Preparación de las células para su análisis por citometría de flujo. Diseño experimental y análisis de los datos. Ventajas e inconvenientes de la citometría de flujo. 5. Principales aplicaciones de la citometría de flujo. Medida de parámetros superficiales: inmunofenotipado. Análisis por multifuorescencia. Análisis de parámetros citoplasmáticos: marcaje intracelular. Análisis de la ploidía del DNA y del ciclo celular. Estudio del crecimiento celular. Medida de la apoptosis. Medida de la actividad fagocítica y del estallido respiratorio. Medida de citocinas intracelulares y secretadas. 6. Separación celular por citometría de flujo. Fundamento. Características de las células separadas por citometría de flujo. Pureza y rendimiento. 7. Bases generales de microscopía óptica. Microscopía de fluorescencia: microscopía confocal y microscopía multifotónica. Fundamentos teóricos y aplicaciones biológicas. 8. Fundamentos de la microscopía electrónica. Técnicas de marcaje a nivel subcelular. Fundamentos teóricos y aplicaciones biológicas. Marcaje inmunocitoquímico en preinclusión y en postinclusión combinado con microscopía electrónica. 9. Detección in situ del reportero lacZ y de dpp en embriones de *Drosophila*. En moscas transgénicas se detectará la expresión de construcciones en las que a un gen reportero (lacZ) se ha fusionado distintas secuencias reguladoras en cis bien normales o mutadas. En paralelo, se detectarán los cambios en la expresión del gen decapentaplegic en mutantes de falta de función del gen cabut y en embriones que sobreexpresan este gen. Se discutirá el trabajo en condiciones libres de RNasas, métodos de marcaje radiactivos y no radiactivos, consideraciones sobre la hibridación de ácidos nucleicos, métodos de detección, sistemas de amplificación de señales. 10. Cuantificación del splicing alternativo del gen Fhos de *Drosophila*. El objetivo de la práctica es determinar el efecto de las expansiones CTG sobre el splicing alternativo de los transcritos de Fhos y de shot (short stop), sirviendo este último como control. Para ello, amplificaremos mediante RT-PCR los fragmentos relevantes de Fhos y shot partiendo de RNA total de moscas adultas que expresan repeticiones CTG en la musculatura y moscas control que no expresan las repeticiones

## VOLUMEN DE TRABAJO (HORAS)

### ACTIVIDADES PRESENCIALES

Actividad	Horas
Tutorías	3,00
Teoría	19,00
Otras actividades	8,00
Laboratorio	13,00
Aula informática	2,00
<b>Total horas</b>	<b>45,00</b>

### ACTIVIDADES NO PRESENCIALES

Actividad	Horas
Asistencia a otras actividades	0,00
Elaboración de trabajos individuales o en grupo	0,00
Estudio y trabajo autónomo	40,00
Preparación de clases	0,00
Preparación de actividades de evaluación	27,50



Resolución de casos prácticos	0,00
<b>Total horas</b>	<b>67,50</b>

## METODOLOGÍA DOCENTE

**Clases teóricas y tutorías:** El profesor expondrá los contenidos del programa mediante lecciones magistrales participativas. Estas sesiones servirán como base teórica para la discusión de artículos y la resolución de problemas y cuestiones por parte de los estudiantes. Asimismo, se realizarán visitas guiadas a laboratorios especializados y servicios centrales de apoyo a la investigación para mostrar en funcionamiento los equipos relevantes para cada técnica.

**Clases prácticas:** Las clases prácticas se realizarán en el laboratorio mediante la ejecución de experimentos reales bajo la supervisión del profesor. Al inicio de cada sesión se realizará una introducción teórica y metodológica, tras la cual el alumnado realizará de forma autónoma las tareas asignadas utilizando un manual con los objetivos y cuestiones a resolver para asegurar el aprovechamiento de la práctica.

## EVALUACIÓN

La evaluación de la teoría constituirá el 50% de la nota final y se realizará mediante pruebas escritas. La resolución de cuestiones-problemas representará un 30% de la calificación, del cual un 15% corresponderá a la valoración de la parte práctica y el otro 15% procederá de la resolución de problemas vinculados a la teoría.

La asistencia y participación, que supondrán el 20% restante, se asignarán a la asistencia y participación en los contenidos prácticos. La asistencia a las prácticas, al menos un 75% de las horas asignadas, es obligatoria para aprobar en primera convocatoria, no exigiéndose una nota mínima en la parte práctica de la asignatura para superarla. En caso de no asistir a prácticas o hacerlo en un porcentaje inferior al 75%, se podrá superar la asignatura en segunda convocatoria contestando a un cuestionario sobre las mismas, bien conjuntamente con un examen sobre la parte teórica si también se ha suspendido o en solitario si la parte teórica ya está aprobada. Para aprobar la asignatura será necesario conseguir una puntuación de al menos 5 puntos sobre un total de 10 y asistir a las visitas guiadas. La nota final se obtendrá al sumar las notas de los tres apartados anteriores, exigiéndose una puntuación mínima de 4 puntos en los contenidos teóricos para compensar y superar la asignatura.

## BIBLIOGRAFÍA

1.- Real-time PCR: an essential guide. 2004. Kirstin Edwards, Julie Logan and Nick Saunders. (Eds). Wymondham (Norfolk). Horizon Bioscience, cop. 2.- Real-Time PCR: Current Technology and Applications. 2009. Julie Logan, Kirstin Edwards and Nick Saunders (Eds). Applied and Functional Genomics, Health Protection Agency, London. Caister Academic Press. 3.- Quantitative Real-time PCR in Applied Microbiology. 2012. Martin Filion (Ed). Department of Biology, Université de Moncton, Canada. Caister Academic Press. 4.- Digital PCR. Methods and Protocols. 2018. George Karlin-Neumann and Francisco Bizouarn (Eds). Springer Protocols. Methods in Molecular Biology vol. 1768. Humana Press. 5.- Flow cytometry: principles and applications. 2007. Marion G Macey. Humana Press. 6.- Practical Flow Cytometry. Howard M. Shapiro. 4ª ed. John Wiley and Sons Inc. Wiley-Liss. 7.- O'Neil, J.W., Bier, E. (1994). Double-label in situ hybridization using biotin, digoxigenin-tagged RNA probes. Biotechniques 17, 870, con modificaciones. 8.- Llamusí B, Muñoz-Soriano V, Paricio N, Artero R. (2014). The use of whole-mount in situ hybridization to illustrate gene expression regulation. Biochem Mol Biol Educ. 2014 Jun 30. doi: 10.1002 /bmb.20807. En cada tema se proporcionará bibliografía específica, principalmente artículos de



investigación o de revisión, que servirá para que los estudiantes puedan profundizar en algunos de los aspectos tratados. Dada su naturaleza, estos artículos se irán actualizando cada año.