

## **Anexo I.**

### **1. Diseño, elaboración de manuales y desarrollo de prácticas de las asignaturas del primer año de la titulación.**

#### **a) Asignatura BIOQUÍMICA**

Esta asignatura es la primera en la que el alumno entra en contacto con las técnicas bioquímicas por lo que en la primera práctica consiste en una "Introducción en la utilización de material y técnicas básicas en el laboratorio de Bioquímica" en la que el alumno se familiariza con equipamiento básico como micropipetas, pHmetro, espectrofotómetro, y centrifugas, que utilizará con frecuencia tanto en prácticas del área de Bioquímica como en otras de contenido Biológico o Química. En las siguientes prácticas se analizan los diferentes tipos de biomoléculas, de forma que el alumno adquiera destreza en la identificación de estas moléculas, así como las características específicas de estas moléculas que hacen posible su identificación y/o cuantificación. Así, en la segunda práctica se realiza el análisis cualitativo (prueba de Fehling) como cuantitativo (método de Nelson/Somogyi) de glúcidos basándose en el poder reductor que tienen algunos de ellos. En la tercera práctica se realiza un "análisis bioquímico de la leche", en la que se realiza un fraccionamiento de los distintos componentes de la leche y se realiza un análisis cualitativo que permite identificar diferentes proteínas, glúcidos o sales minerales presentes en este alimento. En la cuarta práctica se identifica y se cuantifica la vitamina C en diferentes alimentos: zumo de limón, zumos comercial de naranja y vitamina C pura. La última práctica consiste en la realización de purificación, análisis electroforético y cuantificación de ácidos nucleicos. Estas técnicas son básicas en diferentes áreas de conocimiento por lo que esta práctica supone un primer contacto que le permite al alumno conocer los fundamentos en los que se basan y que posteriormente va a aplicar en diferentes áreas de conocimiento como Genética, Microbiología o Inmunología

#### **b) Asignatura METABOLISMO Y SU REGULACIÓN**

El contenido práctico de esta asignatura se centra en las proteínas, ya que ésta es la naturaleza química de los enzimas o catalizadores biológicos que permiten que se produzcan las reacciones metabólicas a una velocidad adecuada.

De este modo, en la primera práctica se analiza y cuantificación de la actividad enzimática de la catalasa de hígado bovino. Esta práctica le permite al alumno aprender a hacer un extracto proteico a partir de un tejido animal, así como a identificar los fundamentos que se utilizan para caracterizar la actividad de los enzimas. Además se realiza una cuantificación de la actividad del enzima a estudiar.

El extracto proteico obtenido en la práctica anterior es utilizado para dos tipos de análisis en las dos siguientes práctica: en la segunda práctica se realiza un análisis electroforético en geles de SDS-PAGE de estas proteínas, técnica que permite la separación de las muestras en función de su peso molecular y en la tercera se cuantifica la concentración de proteínas presentes en la muestra mediante el método de Lowry.

En la cuarta práctica se profundiza en el análisis de la actividad enzimática realizando un estudio de cinética enzimática, utilizando para ello extractos de levaduras con actividad sacarasa. En esta práctica se integran habilidades adquiridas en prácticas anteriores (identificación y cuantificación de glúcidos, análisis de la actividad enzimática).

La última práctica de la asignatura consiste en el aprendizaje del manejo de un programa de hojas de cálculo (Excel) que será necesario para realizar los cálculos en dos de las prácticas realizadas (cuantificación de proteínas y cinética enzimática). Por otra parte profesores del área de Bioquímica han desarrollado un programa, también basado en Excel, para trabajar una parte muy importante de la asignatura como es la acción y regulación enzimática. En este programa se incide en el uso y conocimiento de la hoja de cálculos Excell aplicada a la elaboración de rectas/curvas de calibrado sobre conjuntos de datos que se adapten a una cinética tipo Michaelis-Menten y su interconversión a dobles inversos. En la segunda parte de la actividad, los alumnos utilizarán el programa diseñado por el área de Bioquímica donde podrán comprobar de manera interactiva como influyen los diferentes tipos de inhibidores reversibles en las constantes cinéticas de una reacción enzimática. La realización de este programa ha sido necesaria dado que no se han encontrado programas de acceso libre que se adecuen a los requerimientos para llevar a cabo dicha actividad. Esto nos llevó a la elaboración de un programa propio adecuado a las necesidades de los alumnos y las nuestras propias, esto es gratuito, simple, interactivo y didáctico.

#### **c) Asignatura MICROBIOLOGÍA**

Durante este primer año del Grado de Biotecnología se desarrolla durante el segundo semestre la asignatura de Microbiología. Esta es la primera asignatura del área que los alumnos tienen en la carrera y tiene como finalidad dar unos conocimientos generales sobre la Microbiología. Con esta finalidad, el desarrollo teórico de la asignatura se ha completado con un conjunto de prácticas de laboratorio de forma que los alumnos reciban la formación y destrezas básicas para manejarse en un laboratorio de Microbiología, así como tomen contacto con diferentes

géneros y especies de microorganismos tipo, pertenecientes al grupo de bacterias, levaduras y hongos filamentosos.

El desarrollo de las prácticas se ha planteado de forma que los alumnos reciben un seminario sobre bioseguridad y normas básicas de trabajo en un laboratorio de microbiología. De esta forma se dedicó una jornada a la explicación y desarrollo de las normas de seguridad y el adecuado manejo, no solo de las muestras biológicas, sino también del instrumental del laboratorio.

Durante la primera sesión de prácticas de la asignatura, los alumnos realizaron la preparación de medios de cultivo. En esta primera práctica, los alumnos toman contacto con los principales tipos de medios de cultivo, conocen su clasificación y finalidad de cada uno de ellos. Se prepararon medios de cultivo complejos, tanto líquidos como sólidos, que posteriormente se utilizaron en las siguientes prácticas.

A continuación los alumnos realizaron una práctica sobre tipos de siembra de microorganismos. En esta práctica, los alumnos tomaron contacto por primera vez con los microorganismos, doce especies en total, repartidas en cuatro especies de bacterias, cuatro de levaduras y cuatro de hongos filamentosos. Realizaron diferentes técnicas de siembra dependiendo del microorganismo sembrado.

Como tercera práctica, se les entregó una muestra problema que contenía una mezcla de bacterias. A partir de esta muestra los alumnos han aprendido el protocolo correcto para preparar un banco de diluciones sucesivas y sembrar dichas diluciones. Tras la incubación de las placas, se seleccionaron las diluciones adecuadas y se realizaron aislamientos de colonias aisladas. Estas muestras problema, ya en cultivo puro, serán analizadas a lo largo del resto de prácticas para tratar de identificar el género y la especie de cada uno de los aislamientos.

La cuarta práctica consistió en la realización de tinciones. Entre ellas cabe destacar la Tinción de Gram y la Tinción de Esporas. Los alumnos visualizan los doce tipos de microorganismos que sembraron en la práctica 2 y de esta forma estudian sus diferencias morfológicas con el microscopio. Igualmente a las muestras problema aisladas de la práctica 3 se le realizan las tinciones de Gram para comenzar a clasificar cada uno de los aislados.

La siguiente práctica desarrollada tiene como objetivo que los alumnos conozcan la cinética de crecimiento de los microorganismos. En este caso, la práctica se desarrolla con cultivos de levaduras y se utiliza una cámara Neubauer para calcular la concentración de la muestra. De este modo, el alumno se ha familiarizado con una de las metodologías para el cálculo de la concentración de una muestra problema de organismos eucariotas.

A continuación, los alumnos, utilizando los cultivos de levaduras de la práctica 5, realizan un estudio de viabilidad, en el cual, mediante la tinción con azul de metileno, puede ver cuantos microorganismos están vivos y cuantos no tiene activo su metabolismo, de forma que calculan el porcentaje de viabilidad de un cultivo problema, utilizando de nuevo la cámara Neubauer para contar y calcular concentraciones.

## Anexo II

### **2. Elaboración de un catálogo de técnicas o prácticas a realizar por las diferentes áreas de conocimiento en los cursos que se implantarán en los próximos años.**

En la actualidad nuestro grupo trabaja con diferentes propuestas más o menos elaboradas en función de la proximidad en la implantación de las distintas asignaturas de la titulación. Consideramos importante que las propuestas de prácticas sean realizadas con suficiente antelación porque esto evitará que los alumnos repitan innecesariamente técnicas realizadas con anterioridad en otras asignaturas y facilitará la integración de estas técnicas comunes a distintas áreas de conocimiento. Esta tarea será particularmente relevante en una asignatura de carácter eminentemente práctico y que implica directamente a dos áreas de conocimiento de nuestro departamento: "Laboratorio Integrado de Genética y Biología Molecular" y que se implantará en el tercer curso de la titulación. En este sentido el área de Bioquímica realiza una propuesta que se estudiará junto con el área de Genética y con el resto de áreas del departamento en el marco del presente proyecto. Este tipo de asignaturas integradas es fundamental para la formación del alumno ya que le permite adquirir una visión de conjunto de modo que comprenda que las destrezas técnicas que adquiere en las diferentes asignaturas pueden ser utilizadas en otros campos de la investigación diferentes a la asignatura que está impartiendo docencia. Como propuesta, por tanto, el grupo trabaja en la puesta a punto de una práctica de expresión y purificación de proteínas recombinantes. Para ello el área de Genética realizaría las prácticas consecuentes a obtener la clonación de un fragmento de ADN en un vector de expresión procariota y su posterior transformación en cepas procariotas optimizadas para la expresión (6 sesiones prácticas). A continuación el área de Bioquímica y Biología Molecular desarrollarían las prácticas en las que las bacterias transformadas producirían la proteína codificada por el DNA clonado. Estas proteínas serían analizadas electroforéticamente para evaluar el grado de producción de la proteína recombinante. Finalmente, se procederá a su purificación mediante el empleo de columnas cromatográficas (6 sesiones prácticas).

A continuación se detallan las propuestas realizadas por las diferentes áreas de conocimiento:

#### AREA DE BIOQUÍMICA

Además de la asignatura "Laboratorio Integrado de Genética y Biología Molecular" anteriormente mencionadas, el área de Bioquímica tiene el encargo docente en las asignaturas "Bioquímica Dinámica" y "Cultivos Celulares". En estas dos asignaturas se trabaja con el diseño de prácticas que permitan adquirir al alumno destreza en las técnicas de PCR, identificación de proteínas mediante Western-Blot, inmunofluorescencia indirecta y directa y el manejo de cultivos de celulares animales, tanto en líneas celulares como en cultivos primarios. En este último caso se evalúa en la actualidad la posibilidad de realizar modificación genética de cultivos celulares mediante transfección transitoria de plásmidos.

#### ÁREA DE MICROBIOLOGÍA

Durante los cuatro años correspondientes al grado de Biotecnología, el área de Microbiología dispone de asignaturas teórico-prácticas en cada uno de los cursos del grado y por tanto se irán desarrollando contenidos teóricos y prácticos a lo largo de diferentes asignaturas, algunas de carácter general, como por ejemplo Microbiología en el primer curso, y otras mucho más específicas, como por ejemplo Virología, durante el segundo curso del grado, o Microbiología Industrial, en tercer curso.

Dado al largo recorrido que los alumnos llevarán a cabo por la materia durante el desarrollo del grado, el área de Microbiología ha enfocado las materias prácticas desde un nivel básico de trabajo y seguridad en un laboratorio de microbiología, hasta prácticas mucho más complejas y específicas, como en el caso microbiología molecular, análisis biómico o el laboratorio integrado de procesos biotecnológicos.

A la hora de trabajar en un laboratorio es necesario conocer aquellos riesgos y peligros que entraña la actividad que se está llevando a cabo, pero también es necesario conocer los métodos de actuación en caso de accidente. En el caso concreto de un laboratorio de microbiología y un laboratorio de biotecnología, los riesgos son aún mayores si cabe, ya que se está trabajando con organismos vivos, en muchas ocasiones modificados genéticamente, para conseguir un propósito concreto. Estas características hacen que se incluya por tanto el riesgo biológico en dichos laboratorios, y además, es necesario el conocimiento a la hora del manejo y la manipulación de los residuos que de la normal actividad de estos laboratorios se generen, de forma que se proteja el medio ambiente de la introducción de estos microorganismos. A lo largo de todas las asignaturas, el profesorado del área, dedicará por tanto, una parte de su tiempo a la docencia en materia de bioseguridad y protección del medio ambiente, en forma de seminarios de laboratorio, en el que se detallará el riesgo biológico que pueden presentar las muestras con las que se está trabajando y la manera de manipularlas y gestionar los residuos. Además se especificarán las pautas y

procedimientos de actuación en caso de accidente que impliquen riesgo biológico en el laboratorio de microbiología.

Las habilidades, conocimientos y destrezas que los alumnos deben de adquirir en el grado de biotecnología y concretamente la correspondiente al área de Microbiología se ha planificado de forma que sea gradual y ordenada en dificultad y que tenga una línea clara a lo largo del desarrollo del grado.

Durante el primer curso, en la asignatura de Microbiología, los alumnos van a tener su primer contacto con el laboratorio de Microbiología y con los microorganismos. De esta forma se van a desarrollar una serie de contenidos prácticos básicos y clásicos, dentro del área. Se les enseñará la forma en la que se preparan los medios de cultivo necesarios para el crecimiento y manipulación de microorganismos. De esta forma, el alumno también recibe formación acerca de los procesos de esterilización adecuados según el tipo de material o sustancia a esterilizar. En este primer año, los alumnos entraran en contacto y trabajarán con un amplio número de microorganismos, incluyendo bacterias, hongos unicelulares como las levaduras y hongos filamentosos. Los alumnos estudiarán su morfología y sus principales estructuras de desarrollo, tomarán contacto con un microscopio, instrumento esencial en Microbiología, y realizarán un amplio conjunto de tinciones con cada uno de los microorganismos. También se desarrollarán prácticas de identificación basados en pruebas de clásicas de microbiología de forma que puedan caracterizar e identificar diferentes especies de bacterias, incluyendo la realización de antibiogramas.

Durante el segundo curso de la carrera, los alumnos comenzaran su especialización microbiológica mediante la impartición de la asignatura de Virología. Las partículas víricas al ser entidades sin organización celular que requieren la utilización de células metabólicamente activas para completar su ciclo vital están consideradas la frontera entre lo que se considera un ser vivo y lo que no. Esta característica hace necesario el desarrollo de metodologías específicas para el estudio, caracterización y manipulación de los virus.

En este sentido se complementará la asignatura con una serie de prácticas experimentales basadas en técnicas de laboratorio e informáticas enfocadas al estudio de los virus como entidades biológicas así como a su utilización en los entornos biomédicos e industrial. Dichas prácticas se desarrollaran en dos fases. En la primera se abordara el estudio de aquellos aspectos metodológicos básicos que permitan al alumno aplicar técnicas encaminadas a la determinación de ciclos líticos y lisogénicos, así como llevar a cabo operaciones esenciales como son la titulación de fagos, transfecciones, etc. En la segunda fase, se remarcará el interés de estos organismos en el ambiente ecológico, medico e industrial, además de su importancia como herramientas necesarias en distintas técnicas de biología molecular. En este sentido, se caracterizará el contenido vírico del agua de mar, se realizarán análisis de presencia de rotavirus, el uso de baculovirus como factorías biomédicas, o la innovación en el campo de la biología molecular que ha supuesto el uso de material vírico como retrotranscriptasas o polimerasas de fagos.

Durante el resto de cursos del Grado de Biotecnología, el área de Microbiología impartirá docencia teórico y práctica en otras asignaturas, tanto de carácter obligatorio como optativas, entre las que se encuentran las siguientes: Microbiología Industrial (Tercero), Laboratorio Integrado de Procesos Biotecnológicos (Tercero), Seguridad, Bioseguridad y Aspectos Éticos de la Biotecnología (Cuarto), Análisis Biómico (Cuarto) -estas dos últimas coordinadas con las áreas de Genética y Bioquímica y Biología Molecular-, Microbiología Molecular (Optativa).

El desarrollo de las sesiones prácticas de dichas asignaturas se irá coordinando con las demás áreas de conocimiento del Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública, de forma que los alumnos puedan recibir la formación más completa posible y sin que existan solapamientos de conocimientos entre las diferentes asignaturas del Departamento. Esta actividad de coordinación se realiza gracias a la concesión durante el presente año de un proyecto de innovación docente que se solicitará su prórroga durante lo siguientes curso hasta completar todos los cursos del grado de biotecnología

#### ÁREA DE GENÉTICA

En la actualidad el área de genética elabora un catálogo con una serie de técnicas en las que considera que el alumno debe adquirir destreza y que son las siguientes:

Extracción de ADN. Es una técnica básica para el inicio de cualquier investigación genética, ya que nos permite obtener la "materia prima" para realizar cualquier técnica que necesitemos en el transcurso de la investigación

PCR y Digestión. La PCR es una técnica común y normalmente indispensable en laboratorios de investigación médica y biológica para una gran variedad de aplicaciones. Entre ellas se incluyen la clonación de ADN para la secuenciación, la filogenia basada en ADN, el análisis funcional de genes, el diagnóstico de trastornos hereditarios, la identificación de huellas genéticas (usada en técnicas forenses y test de paternidad) y la detección y diagnóstico de enfermedades infecciosas. La digestión es una técnica utilizada en biología molecular para linealizar el ADN y en conjunto con la PCR para realizar RFLP's (polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción) en el análisis de poblaciones. Consiste en cortar el ADN con enzimas de restricción que reconocen lugares específicos denominados Dianas de Restricción.

Electroforesis. La electroforesis es una técnica que permite separar moléculas cargadas eléctricamente, entre las cuales se encuentran los ácidos nucleicos (DNA y RNA) o las proteínas. El movimiento de las moléculas cargadas se hace a través de una matriz porosa (o gel), que está inmersa en un medio acuoso. Bajo el campo eléctrico aplicado, las diferentes moléculas de la muestra se mueven a través de la matriz a diferentes velocidades, de forma que al final de la electroforesis las distintas moléculas se pueden diferenciar como bandas separadas a distintas posiciones en la matriz.

Cariotipo. El cariotipo es la dotación cromosómica completa de un individuo tal como se observa en la metafase mitótica. Esta dotación cromosómica se ordena según su tamaño y posición del centrómero. El cariotipo permite identificar anomalías cromosómicas como causa de malformaciones o de enfermedad. También se puede detectar anomalías (en número, tamaño, etc.) causadas por agentes externos (contaminación).

Control genético de caracteres cualitativos: Herencia mendeliana dihíbrida en maíz. En genética es importante la clasificación de los fenotipos de una población, así como el recuento y análisis de cada fenotipo, ya que este recuento se comparará con las proporciones teóricas esperadas, para comprobar que los valores obtenidos en el recuento se corresponden con los valores de la predicción teórica.

#### ÁREA DE INMUNOLOGÍA

Esta área de conocimiento impartirá la asignatura "inmunología" que se implantará en el tercer curso de la titulación. En la actualidad se está trabajando en el diseño de las siguientes prácticas:

Práctica 1. Aislamiento de células mononucleares de ratón.

Objetivos de la práctica:

- Aprender a obtener una suspensión de células a partir de órganos laxos.
- Conocer cómo se eliminan los hematíes contaminantes.
- Aprender a calcular la concentración de células en una suspensión.
- Conocer cómo se puede estimar la viabilidad de una suspensión celular (colorantes vitales).
- Saber calcular el número de células que hay en un volumen determinado sabiendo su concentración celular.
- Conocer y utilizar las placas de cultivo que se usan en biología celular. Saber lo que significa cultivar células.
- Aprender cómo se añaden interleucinas u otras sustancias con actividad biológica a un cultivo celular.

Habilidades

Para la consecución de estos objetivos será necesaria la adquisición de las siguientes habilidades:

- Manejo general del material de laboratorio: pipetas, micropipetas, placas de Neubauer, microscopio, etc.
- Capacidad de realización de purificación y cultivos celulares.
- Habituarse a las medidas de concentración celular utilizadas en inmunología y en biología celular células/ml.
- Interpretación de resultados de un test metabólico.

Práctica 2. Enzimoinmunoensayo (ELISA). Análisis cuantitativo de la presencia de un determinado antígeno.

Objetivos de la práctica

Se pretende lograr que los alumnos adquieran las habilidades necesarias para poder:

- Determinar la concentración de un determinado antígeno en un suero o en otra solución acuosa cuando se dispone de dos anticuerpos dirigidos contra diferentes epítopos de este antígeno y uno de ellos está unido a peroxidasa.
- Conocer la base teórica que posibilita determinar si un organismo tiene en su corriente circulatoria anticuerpos específicos frente a un determinado antígeno aún cuando su concentración en suero sea extremadamente baja.

Habilidades.

Para la consecución de estos objetivos será necesaria la adquisición de las siguientes habilidades:

- Manejo general del material de laboratorio: pipetas, micropipetas, placas de ELISA, lector de ELISA, etc.
- Capacidad de realización de diluciones seriadas, cálculo de concentraciones y preparación de disoluciones necesarias.
- Interpretación de resultados de un lector de ELISA.
- Cálculo y representación de curvas-patrón. Manejo de gráficos logarítmicos.

### Práctica 3. Identificación de subpoblaciones celulares por citometría de flujo

#### Objetivos de la práctica

Se pretende lograr que los alumnos adquieran las habilidades necesarias para poder:

- Determinar si en la membrana de una célula hematopoyética en suspensión se expresa o no una determinada molécula de membrana. Este estudio permite la identificación de subpoblaciones celulares si los anticuerpos se dirigen contra moléculas de diferenciación (específicas de ciertas estirpes celulares).

#### Habilidades

Durante esta práctica se logrará que los alumnos adquieran las siguientes habilidades:

- Manejo general del material de laboratorio: pipetas, micropipetas, centrífugas, etc.
- Capacidad de realización de tinciones de poblaciones celulares de sangre periférica.
- Interpretación de los resultados del citómetro de flujo: tinciones simples, dobles, porcentajes canales medios de fluorescencia.