

LABORATORI I

Ensenyament:	Bioquímica
Tipus d'assignatura:	Obligatòria
Crèdits:	6 Pràctics
Departament responsable:	Bioquímica i Biologia Molecular
Professor coordinador:	Dr. Vicent Casadó
Altres professorats:	Dr. Joan Carles Domingo
Idioma:	Català
Semestre:	Primer

Objectius

Aquesta és una assignatura de tipus pràctic en la qual l'alumne ha de familiaritzar-se amb el treball en el laboratori, adquirint habilitat en l'aplicació, desenvolupament i correcta interpretació de resultats de diferents tècniques bàsiques usualment utilitzades en el laboratori bioquímic. Paral·lelament, l'alumne rebrà uns conceptes teòrics d'aquestes tècniques de laboratori que li permetran entendre i desenvolupar correctament les diferents tècniques bioquímiques emprades al llarg de les pràctiques a realitzar.

Programa

1.- Introducció. Presentació del programa del curs, mètode d'avaluació i estratègia docent. Organització del curs, distribució de pràctiques i grups. Organització del laboratori. Material bàsic. Balances i micropipetes. L'aigua. Controls i blancs. Preparació de dissolucions i solucions fisiològiques. pH i solucions amortidores. Tècniques de detecció i tècniques de separació-purificació.

Aplicacions pràctiques: Preparació de dissolucions i amortidors. Manipulació de balances i micropipetes.

2.- Tècniques de centrifugació. Velocitat i coeficient de sedimentació. Centrifugació diferencial i en gradient de densitat. Centrifugació analítica. Tipus de centrífugues, rotors i tubs. Aplicacions. Seguretat.

Aplicacions pràctiques: Utilització de centrífugues preparatives. Centrifugació diferencial. Obtenció de membranes cel·lulars. Obtenció d'extractes cel·lulars i de citosol.

3.- Tècniques espectroscòpiques. Principis generals. Espectre electromagnètic. Espectrometria d'absorció molecular visible i ultraviolada. Espectrometria d'absorció i d'emissió atòmica. Espectrometria de dispersió de la radiació. Aparells i cubetes. Aplicacions bioquímiques; el problema dels blancs i dels patrons.

Aplicacions pràctiques: Quantificació de proteïnes. Determinació de la permeabilitat de la membrana dels eritròcits.

4.- Primeres etapes de separació i purificació de material biològic. Homogeneïtzació. Fraccionament subcel·lular. Tractament tèrmic i de pH. Fraccionament salí i amb dissolvents orgànics. Solubilització de membranes amb detergents. Filtració, ultrafiltració, concentració i diàlisi.

Aplicacions pràctiques: Homogeneïtzació de teixits. Separació de proteïnes del sèrum per fraccionament salí, diàlisi de les mostres i concentració per ultrafiltració. Solubilització de membranes amb detergents.

5.- Tècniques cromatogràfiques. Principis generals. Fase mòbil i estacionaria. Classificació de les tècniques cromatogràfiques. Cromatografia d'adsorció i de repartiment. Cromatografia d'exclusió molecular. Cromatografia de bescanvi iònic. Cromatografia d'afinitat. Aplicacions bioquímiques.

Aplicacions pràctiques: Cromatografia en capa prima d'una mescla de lípids. Separació de molècules per cromatografia d'exclusió molecular. Separació de proteïnes del sèrum per cromatografia de bescanvi iònic.

6.- Tècniques electroforètiques (introducció). Principis generals. Medis selectius i no selectius. Punt isoelèctric i separació per càrrega. Separació per grandària molecular. Detecció i quantificació de mostres. Material electroforètic.

Aplicacions pràctiques: Anàlisi electroforètica de proteïnes del sèrum amb tires d'acetat de cel·lulosa.

7.- Tècniques immunoquímiques. Principis generals. Producció d'anticossos. Tècniques amb reactius marcats i no marcats. Aglutinació. Immunoprecipitació. Radioimmunoassaig (RIA). Dot-blot i Enzim-immunoassaig (ELISA). Marcatge amb fluorescència i amb quimioluminiscència. Aplicacions analítiques i preparatives.

Aplicacions pràctiques: Immunodetecció d'albumina per dot-blot.

8.- Tècniques radioisotòpiques. Fonaments de la radioactivitat. Tipus d'emissió radioactiva. Interacció emissió-materia. Detecció i mesura. Anàlisi de dades. Radioprotecció. Marcatge de compostos bioquímics. Aplicacions bioquímiques i farmacològiques.

Aplicacions pràctiques: Caracterització farmacològica d'un receptor hormonal mitjançant tècniques radioisotòpiques.

Pràctiques

1. Preparació de dissolucions i amortidors. Micropipetes. Obtenció de mostres biològiques.
2. Quantificació de proteïnes
3. Permeabilitat d'eritròcits
4. Immunodetecció d'albumina per dot-blot
5. Cromatografia en capa prima d'una mescla de lípids
6. Separació de proteïnes del sèrum per cromatografia de bescanvi iònic i

- fraccionament salí
7. Separació de molècules per cromatografia d'exclusió molecular
 8. Anàlisi electroforètica de proteïnes del sèrum amb tires d'acetat de cel·lulosa
 9. Caracterització farmacològica d'un receptor hormonal mitjançant tècniques radioisotòpiques.

Objectius concrets

1. Familiaritzar-se amb el treball al laboratori bioquímic i aprendre a emprar les tècniques bàsiques (especialment les relacionades amb la manipulació de proteïnes)
2. Aprendre a treballar en grup en el laboratori: distribució de tasques i discussió de resultats dins el grup
3. Elaborar un quadern de laboratori: claredat, rigor, portat al dia, ...
4. Saber discutir els resultats i exposar-los en grup
5. Adquirir els conceptes teòrics que fonamenten les tècniques emprades al laboratori
6. Assolir l'habilitat per aplicar cada tècnica segons el problema concret a resoldre

Metodologia docent

Per tal de facilitar i optimitzar el treball dels alumnes:

- els alumnes es distribuïran en 4 grups de pràctiques d'uns 16 alumnes
- dins de cada grup, les pràctiques es desenvoluparan per parelles
- prèviament a la realització de les pràctiques, l'alumne disposarà d'un guió detallat que li permeti la preparació prèvia de les mateixes i li faciliti la realització i la comprensió de les pràctiques
- cada alumne realitzarà el seu quadern personal de pràctiques, on anotarà els diferents processos efectuats, amb especial atenció als resultats obtinguts, càlculs realitzats i comentaris (discussió de resultats) de forma concisa i especialment clara
- el professor explicarà el fonament teòric de les diferents pràctiques i tècniques que es desenvoluparan al laboratori, aclarirà tots els dubtes que puguin sorgir, i guiarà als alumnes al llarg de les diferents sessions
- al finalitzar les sessions de pràctiques caldrà posar en comú els resultats obtinguts pels diferents grups, així com discutir-los per posar de manifest el significat que puguin tenir
- l'assistència a les diferents sessions de pràctiques **serà obligatòria**, no així a les sessions de conceptes teòrics i de discussió de resultats, tot i que també és molt recomanable i avaluable de forma addicional.

Les sessions d'explicació dels fonaments de les diferents pràctiques i tècniques tindran una durada de 3 hores cadascuna i les de desenvolupament de les pràctiques de 5 hores cadascuna. En la mateixa sessió, els diversos grups d'alumnes realitzaran varies pràctiques, de forma que, al no coincidir tots els grups en la utilització del material i aparells del laboratori, s'optimitzarà la seva utilització i es reduirà el temps d'espera innecessari i les cues. L'alumne disposarà d'un total de 9 pràctiques per realitzar en sengles dies.

Avaluació

El fet de què els grups de pràctiques siguin poc nombrosos i la pròpia naturalesa de l'assignatura permeten realitzar un seguiment més individualitzat dels alumnes pel que fa a l'**assistència (obligatòria)**, a l'interès mostrat davant les pràctiques, la destresa mostrada en la seva execució, així com al treball en equip (qualificació de **laboratori: 15%**, imprescindible aprovar).

Les aportacions fetes el dia de l'exposició en comú dels resultats i la **discussió** dels mateixos serà valorada i podrà incrementar entre **0 i 1 punt** la qualificació final de l'assignatura

També es realitzarà un control dels resultats obtinguts, càlculs efectuats i discussió dels resultats a partir del quadern de laboratori personal de cada alumne (qualificació del **quadern: 15%**, imprescindible aprovar).

A més, l'avaluació es completarà, una vegada finalitzades les pràctiques, amb la realització d'una **prova de síntesi escrita (70%**, imprescindible aprovar) dels conceptes teòrics i pràctics treballats al llarg de l'assignatura.

Com l'assistència a les pràctiques és obligatòria **l'avaluació és continuada** per a tot l'alumnat.

El fet de faltar a una sessió de pràctiques (i no recuperar-la), de no aprovar la qualificació de laboratori (actitud i destresa) o de no aprovar la qualificació del quadern de pràctiques comportarà la necessitat de matricular de nou l'assignatura. Si no se supera la prova de síntesi escrita es pot optar a una segona convocatòria de la mateixa, mantenint la qualificació dels altres apartats.

Manual de pràctiques

Els guions recollits en aquest manual presenten cada una de les pràctiques de manera resumida, incidint especialment en els aspectes metodològics més que en els fonaments teòrics, els quals, com ja s'ha comentat, s'impartiran en sessions específiques i l'alumne també pot consultar, si s'escau, en els manuals i llibres de text que figuren a la bibliografia.

La descripció de cada pràctica inclou, junt amb el llistat de reactius i d'altre material necessari, una petita introducció on es presenten els aspectes conceptuals de la tècnica i es comenta la seva finalitat. A continuació, es descriu amb força detall el protocol a seguir, amb indicació exacta de volums, temps, etc. Finalment, s'inclouen algunes preguntes per tal que l'alumne pugui aprofundir en el significat i l'aplicabilitat del procés que acaba de realitzar i, a l'hora, el professor pugui apreciar el grau de coneixement obtingut per l'alumne.

El manual es troba als dossiers electrònics de l'assignatura i s'actualitza anualment abans de l'inici del nou curs.