

## ESTANCIA ALUMNOS OLIMPIADA ESPAÑOLA DE BIOLOGÍA 2022

27 de junio al 1 de julio 2022

### Práctica en el CBM Severo Ochoa

#### *Técnicas de Biología Molecular para entender la función de un gen y su proteína*

#### **Ejemplo: estudio de la Tubulina**

Mediante técnicas de Biología Molecular es posible estudiar la función de un gen y de la proteína que codifica, así como de las patologías que pueden producir sus alteraciones. Cada tecnología empleada va a ir dando distintas claves que, uniéndolas como piezas de un rompecabezas o pistas de un laberinto o para un detective, nos ayudarán a ir teniendo una visión de la posible función que queremos averiguar a través del trabajo de investigación. Durante esta semana se van a utilizar diversas técnicas de Biología Molecular, y en algunas de ellas como ejemplo se usará el gen de la Tubulina y la proteína que codifica. Esperemos que os guste lo que hemos preparado.

#### Lunes 27 de junio

9:00-10:00 NGS

- El gen de la tubulina:
  - Localización en el genoma, estructura génica y genómica comparativa.
  - Secuencia del gen y de la proteína.
- Nociones sobre Secuenciación Masiva
  - [Resumen olimpiadas 2022 GENGS NGS.pdf](#)
  - [Video: Secuenciación COVID. ¿en qué consiste?](#)

10:00-11:00 BIOINFORMATICA

- Búsqueda de estructuras en el PDB de la  $\alpha 1A$  (TUBA1A),  $\beta I$  (TUBB) y de la GFP
- Modelado del dímero  $\alpha 1A/ \beta I$  y de parte del microtúbulo.
- Modelado de la GFP en N y C-terminal de  $\alpha 1A$ 
  - [A photostable monomeric superfolder green fluorescent protein.pdf](#)
  - [tubulines-review.pdf](#)

11:00-11:30 DESCANSO

11:30-14:30 **FERMENTACIÓN**

Trabajo a llevar a cabo:

| Concepto                                    | Práctica  |
|---|---|
| ✓ Transformación bacteriana y clonaje DNA   | <ul style="list-style-type: none"><li>• Transformación química en cepa de clonaje</li><li>• Electroporación en cepa de expresión<ul style="list-style-type: none"><li>○ <a href="#">SGFP vector plasmid.pdf</a></li></ul></li></ul> |
| ✓ Evolución de cultivos                     | <ul style="list-style-type: none"><li>• Seguir curva de crecimiento por Absorción</li><li>• Seguir N° de células viables</li></ul>  |
| ✓ Operón Lac y expresión de proteína        | <ul style="list-style-type: none"><li>• Inducción de GFP con lactosa e IPTG</li></ul>   |
| ✓ Técnicas microbiología, cultivos axénicos | <ul style="list-style-type: none"><li>• Siembra en medios sólido y líquido</li><li>• Antibiograma</li><li>• Banco de diluciones seriadas</li></ul>  |

## Martes 28 de junio

9:00-9:30 **FERMENTACIÓN**

- Recogida de muestras

9:30-11:00 **GENÓMICA**

- Introducción al Servicio de Genómica y NGS
- Extracción de ácidos nucleicos
- Cuantificación de ácidos nucleicos
  - [Extracción y cuantificación de ácidos nucleicos.pdf](#)
  - [Video: PCR COVID: ¿en qué consiste?](#)

11:00-11:30 DESCANSO

11:30-14:30 **CULTIVOS**

- Contaje de células
- Siembra de distintas cantidades de células
- Transfección de células con distintos ADN plasmídicos
  - [Servicio Cultivos Olimpiadas Biología 2022.pdf](#)

## Miércoles 29 de junio

9:00-9:15

### CULTIVOS

- Observación de células sembradas día anterior

9:15-11:00

### CITOMETRÍA DE FLUJO

- Análisis de la eficiencia de transfección
- Análisis de ciclo celular.
- Separación de células transfectadas para posteriores análisis por otras técnicas (western blot, PCR, cultivo celular...). Esta aplicación se explicará brevemente *in situ* durante una separación celular real
- [Información complementaria citometria.pdf](#)
- [Vídeo de introducción teórica de la técnica](#)

11:00-11:30

DESCANSO

11:30-14:00

### MICROSCOPIA OPTICA Y CONFOCAL (SMOC)

- [Vídeo: Diferencias entre los diversos microscopios del servicio](#)
- **Time lapse sobre las células vivas que vienen expresando GFP-tubulina.** Buscaremos las células que se encuentren en metafase para poder ver el proceso de división celular en directo. Para ver que es posible realizar ensayos multi tinción añadiremos Mito Tracker rojo (tinción de mitocondrias) sobre esas mismas células y visualizaremos los dos colores.
- **Tinción de tubulina por inmunofluorescencia indirecta** para visualizar la misma proteína mediante abordaje en célula fijada. Añadiremos también un marcador de DNA (dapi).
- [TINCIÓN DE CITOESQUELETO con Dapi + Mitocondrias 2.pdf](#)
- [Esquema/resumen del Vector: pEGFP-Tub.pdf](#)

Para pensar... ¿Cómo crees que va a ser el aspecto de las células GFP-tubulina en metafase cuando las visualicemos al microscopio de fluorescencia?

14:00-15:00

COMIDA

15:30-18:00

### LABORATORIO DR. ANTONIO ALCAMÍ

- Electroforesis de ácidos nucleicos: digestión del plásmido de la GFP
- Electroforesis de la proteína GFP
- [Olimpiadas Bio Lab Alcamí v2.pdf](#)

## Jueves 30 de junio

9:00-11:00

### MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

- Explicación microscopio electrónico de transmisión y preparación de muestras.
- **Práctica:** Tinción negativa de bacteriófagos.
- Visualización de preparaciones de virus, células, tejidos e inmunomarcajes con oro coloidal.
- Tutorial sobre obtención de cortes ultrafinos en ultramicrotomo.

11:00-11:30

DESCANSO

11:30-14:30

### TRANSGÉNESIS DE DROSOPHILA

- Tour por las cámaras y cocina de las instalaciones de moscas
- Presentación general en PowerPoint del servicio de Transgénesis
- Práctica de todo el proceso de inyección:
  - ✓ Preparación del material
  - ✓ Puesta de embriones
  - ✓ Recolectar y decorionar embriones
  - ✓ Alinear
  - ✓ Inyectar
  - ✓ Recolección de larvas

## Viernes 1 de julio

9:00-11:00

### ANIMALARIO

- Tour zona convencional
- Planteamiento de un proyecto de investigación
- 3Rs y bienestar animal
- Reflexión final

11:00-11:30

DESCANSO

11:30-13:30

### **DISCUSIÓN**

- Reunión con representantes del laboratorio y los servicios visitados
- Aclaración de dudas
- Comentarios

13:30-14:00

**DESPEDIDA**

## **PARTICIPANTES:**

**Animalario:** Anna Gascón

**Bioinformática:** David Abia

**Citometría de Flujo:** Silvia Andrade y Raquel Nieto

**Cultivos:** Marta Fierro

**Fermentación:** Dionisio Ureña y Maribel Carrascal

**Genómica:** Fernando Carrasco y Gabriela Atencia

**Laboratorio Dr. Alcamí:** Antonio Alcamí, África Sanchiz y Javier Álvarez de Miranda

**Microscopía Electrónica:** Maite Rejas y Milagros Guerra

**Microscopía Óptica y Confocal:** Carmen Sánchez, Carlos Gallego y Maite Villalba

**NGS:** Sandra González y Eva Sacristán

**Transgénesis de Drosophila:** Mar Casado y Nuria Esteban

**Coordinación Científica:** Begoña Aguado

**Coordinación Técnica:** Almudena Hernando



*“Me enorgullece decir que el Centro de Biología Molecular fue mi sueño... Gracias al CBM, a sus científicos y a todo su personal, ya no se puede decir que no existe investigación en España”*

**Severo Ochoa**