

# Programa de Doctorado: Biotecnología: Aplicaciones Biomédicas

## Información General del Programa

### a) Objetivos generales del programa.

El Programa de Doctorado “Biotecnología: Aplicaciones Biomédicas” es un Programa propuesto conjuntamente por el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Fisiología de la Universidad de Valladolid y por el Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM). El IBGM es un centro mixto de la Universidad de Valladolid y el CSIC, que agrupa a la Sección de Medicina del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Fisiología, a varios laboratorios del Departamento de Pediatría y a un conjunto de investigadores de plantilla del CSIC pertenecientes al IBGM.

Este Instituto viene realizando desde hace muchos años una investigación de alta calidad reconocida internacionalmente en diversos campos de la Fisiología Celular, la Inmunología, la Biología y Genética Molecular y el Desarrollo. Esta labor continuada de investigación se ha materializado en la gestión de numerosos proyectos financiados por Agencias nacionales e internacionales, tanto públicas como privadas, en la firma de múltiples contratos con empresas para la realización de proyectos específicos de investigación, en el desarrollo de patentes y en la publicación continuada de trabajos de investigación en revistas internacionales de alto impacto. Esta actividad investigadora representa además una parte sustancial de la investigación biomédica de nuestra Universidad reflejada en los bancos de datos internacionales. Debemos destacar que el IBGM fue el primer Centro Mixto con el CSIC en la Universidad de Valladolid y su último Plan Estratégico fue valorado muy favorablemente por los evaluadores internacionales convocados por el CSIC.

En consecuencia, periódicamente se asignan nuevas plazas de Científico Titular a este Centro por parte del CSIC. Además, los Departamentos implicados en este Programa y el IBGM han obtenido en los últimos años trece contratos de investigadores del programa Ramón y Cajal. De ellos, más de la mitad han obtenido ya su estabilización, bien en forma de Científicos Titulares del CSIC o de Contratados Doctores de la Universidad. Este potencial de crecimiento es el que llevó a solicitar y obtener financiación europea para construir un nuevo edificio para el IBGM, que se construyó en terrenos de la Universidad próximos a la Facultad de Medicina y al Hospital Clínico y entró en funcionamiento hace ya casi dos años con una considerable dotación de equipamiento proporcionada por el CSIC. Este nuevo edificio ha supuesto una ampliación muy importante de los espacios disponibles para investigación, ya que el IBGM sigue manteniendo la mayor parte de los espacios que antes ocupaba en la Facultad de Medicina. Este nuevo marco ampliado de personal, espacios y equipamiento resulta ideal para el desarrollo de nuestro Programa de Doctorado. Los proyectos que se desarrollan en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Fisiología y en el IBGM tienen tanto un carácter básico como aplicado. El Departamento posee dos secciones en el campus de Valladolid, una en la Facultad de Medicina y otra en la Facultad de Ciencias. En la Sección de Medicina, integrada en el IBGM, se estudian desde hace muchos años diversos aspectos básicos de los mecanismos de activación y señalización celular, incluyendo la regulación del transporte iónico a través de membranas y su papel en la neurosecreción, el papel funcional de distintos genes en el desarrollo embrionario y la señalización por mediadores lipídicos. Además, algunos laboratorios tienen una proyección marcadamente clínica, dirigiendo sus esfuerzos tanto al desarrollo de técnicas moleculares para el diagnóstico genético y molecular, como a la colaboración con diversos Servicios de los Hospitales de Valladolid en relación con técnicas novedosas de evaluación de tumores hipofisarios o de regeneración miocárdica utilizando células madre. Por otro lado, en la Sección de Ciencias se llevan a cabo desde hace también muchos años proyectos biotecnológicos relacionados con la Fisiología vegetal, destacando la obtención de productos vegetales, algunos

de ellos ya bajo patente, de posible utilización en el tratamiento médico. Junto con estos grupos colaboran en este Programa una serie de investigadores del CSIC que trabajan en temas relacionados con la inflamación y la inmunidad innata, la señalización intracelular o el desarrollo. En todos los casos se comparte un énfasis común en los aspectos funcionales y en el análisis celular y molecular de los procesos, evitando la aparente disociación entre la investigación básica y aplicada. El bagaje técnico del Departamento comprende toda la gama de tecnologías biológicas modernas que van desde el uso de las técnicas de recombinación del DNA, estudios de expresión de genes y productos génicos, hasta la espectrometría de masas, microfluorescencia, microscopía confocal y análisis de imagen computarizado en célula única, pasando por las técnicas de registro de canales iónicos, "patch-clamp", la micropurificación de proteínas, HPLC, citometría de flujo, cultivo de tejidos, etc.

Nuestro Departamento mantuvo un Programa de Doctorado propio hasta el año 1999, y desde entonces hasta el curso 2002-2003 estuvimos integrados en un Programa de Doctorado interdepartamental elaborado por varios Departamentos preclínicos de la Facultad de Medicina. Ante el crecimiento experimentado por el IBGM en aquellos años, con la incorporación de 4 nuevos científicos titulares del CSIC y 10 nuevos contratados por el programa Ramón y Cajal, optamos ya en el curso 2003-2004 por ofertar de nuevo un Programa de Doctorado propio, en el que pudieran participar la mayor parte de los en torno a 50 doctores que componen nuestro Instituto y Departamento. Este programa tiene como objetivo formar a los estudiantes en aspectos avanzados de Bioquímica, Genética y Fisiología Celular que les capaciten para aplicar todo el repertorio actual de técnicas biotecnológicas al campo de la Biomedicina, tanto durante la realización de su tesis doctoral como en su futuro ejercicio profesional. Es por eso que el Programa se titula: "Biotecnología: Aplicaciones Biomédicas"

El Programa incluye por un lado 7 cursos con contenido teórico básico, cuyo contenido se corresponde directamente con las líneas de investigación de los grupos y personas implicadas en la docencia de los mismos, y por lo tanto constituyen el esqueleto básico del Programa. Los alumnos deben elegir obligatoriamente 5 de estos 7 cursos en su primer año de Doctorado:

- Señalización celular
- Bases Moleculares del transporte de membrana y la excitabilidad celular
- Enfermedades inflamatorias y autoinmunes: Fisiopatología molecular
- Enfermedades genéticas: Fisiopatología molecular
- Aplicaciones de la Biología Molecular en Biomedicina
- Desarrollo, Diferenciación y Terapia Celular
- Estructura y Función de Proteínas.

El resto de los créditos del primer año se consiguen matriculándose en 2 de los cursos prácticos, que son todos los demás cursos del Programa. Estos cursos prácticos o metodológicos cubren la mayor parte de las técnicas disponibles en el Instituto. De esta manera, los alumnos obtienen una base teórica bastante homogénea en relación directa con las líneas de investigación del Instituto, y luego pueden elegir (junto con su Tutor) qué tipo de técnica les resulta más útil aprender con vistas al desarrollo de su Tesis. Debemos finalmente resaltar que nuestro Programa de Doctorado está enfocado primordialmente a formar a los alumnos que van a realizar su Tesis Doctoral en el IBGM. De hecho, la casi totalidad de nuestros estudiantes en los últimos años han hecho o están haciendo en este momento su Tesis Doctoral en el Instituto financiados por distintas becas o contratos con Organismos públicos o privados. Es por ello que un parámetro importante de la calidad de la formación de estos estudiantes se puede medir a partir de la calidad de las publicaciones obtenidas por ellos y que van a formar parte de sus Tesis Doctorales.

Por otro lado, en los últimos años el IBGM ha experimentado un crecimiento espectacular a raíz de la llegada de un plantel de contratados Ramon y Cajal y Científicos Titulares del CSIC, y de las nuevas posibilidades de financiación generadas por las Redes. Es por tanto previsible que el número de Tesis leídas aumente considerablemente en los próximos años, en proporción con el

número de Doctores que intervienen en el Programa. Hay que mencionar también que este Programa de Doctorado no consiste únicamente en los Cursos que oficialmente forman el Programa sino también en el contacto y formación diaria que genera el trabajo tutorizado en el laboratorio. La mayor parte de nuestros alumnos empiezan a realizar el trabajo experimental de su Tesis Doctoral antes incluso de haberse matriculado del primer año del Programa de Doctorado y cuando aún están a la espera de obtener su beca. Los cursos se desarrollan por tanto de forma paralela con el trabajo de laboratorio, y muchos de los Doctorandos obtienen sus primeras publicaciones ya en esos primeros años.

**b) Estructura del programa de doctorado para el curso 2008-2009, incluyendo descripción de cada curso.**

**Cursos del Programa de doctorado**

**SEÑALIZACION CELULAR**

**Créditos: 3**

TIPO DE CURSO: Téorico o fundamental

**a. Objetivos específicos:**

- Se pretende que el alumno adquiera un conocimiento integrado de los elaborados mecanismos de señalización desarrollados por las células de los organismos pluricelulares para comunicarse entre sí y con su entorno, de forma que puedan gobernar su propio comportamiento en beneficio del organismo completo como un todo.
- Cómo estos mecanismos de comunicación dependen de moléculas señales extracelulares, que mediante una red intrincada de proteínas y pequeños mediadores intracelulares conducen a una respuesta celular adecuada al estímulo recibido
- El alumno además de familiarizarse con los componentes de las diferentes vías de señalización utilizadas por lo distintos tipos de células, deberá adquirir conciencia de la enorme complejidad de estas redes de comunicación y de cómo se interconectan entre sí, de forma que las células de los organismos pluricelulares son capaces de integrar la enorme variedad de señales que reciben de su entorno para dar la respuesta más adecuada en cada circunstancia
- Se tratará de forma monográfica la importancia del ión calcio como mensajero intracelular, ya que la homeostasis y transporte de  $Ca^{2+}$  ocupan un lugar central en las líneas de investigación de nuestro instituto, asimismo se tratarán de forma monográfica las vías de señalización implicadas en transducción sensorial, reacción inflamatoria y muerte celular por ser también líneas de investigación prioritarias en nuestro centro.

**b. Contenido:**

- Principios generales de Señalización Celular
- Receptores de superficie celular y receptores intracelulares: clasificación y características generales de la señalización acoplada a los distintos tipos de receptores
- Receptores nucleares: estructura y mecanismo de acción. Señalización por NO
- Señalización a través de receptores de superficie acoplados a Proteínas G
- Superfamilia de Proteínas G heterotriméricas: Tipos, Características y mecanismos de regulación
- Señalización a través de receptores de superficie asociados a enzimas. Receptores Tirosina Quinasa
- Fosforilación en tirosinas y señalización: Protein quinasas y Protein fosfatasas
- Superfamilia de proteínas G pequeñas monoméricas: tipos, características y mecanismos de regulación
- Cascadas de MAP quinasas
- Homeostasis del calcio citosólico. El ión calcio como mensajero intracelular
- Canales de calcio intracelulares
- Vías de señalización implicadas en la transducción sensorial

- Vías de señalización implicadas en la reacción inflamatoria
- Vías de señalización implicadas en la muerte celular

#### c. Metodología

El curso consta de dos tipos de actividades claramente diferenciadas:

- Unas sesiones “teóricas”, en las que los profesores explican los contenidos antes reseñados. Estas sesiones se presentan en forma de power point y se acompaña en ocasiones de videos, tienen un diseño interactivo con el fin de favorecer la participación del alumno
- Unas sesiones “prácticas”, en las que los alumnos exponen públicamente (a compañeros y profesores del curso) trabajos monográficos relacionados con los temas tratados en las sesiones teóricas. Cada alumno es tutorizado por un profesor, que le facilita los artículos y revisiones científicas en que se basará su exposición y le orienta y asesora sobre la mejor realización de la misma. La exposición dura entre 20 y 30 minutos y a continuación se abre un coloquio en el que participan profesores y alumnos.

#### d. Criterios de evaluación

- Un criterio fundamental para la evaluación es el trabajo monográfico realizado por el alumno. Se valora además del grado de comprensión y profundización científica, la claridad en la exposición y la metodología empleada, ya que uno de los fines que se persiguen es que los alumnos aprendan a exponer en público sus propios resultados de investigación en un futuro.
- Otro de los criterios utilizados para la evaluación es la asistencia y grado de participación en las sesiones teóricas

#### e. Bibliografía

- Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter. *Molecular Biology of The Cell* Ed. Garland Science NY. Fourth Edition. 2002
- Blume-Jensen P, Hunter T. Oncogenic kinase signalling. *Nature*. 2001 May 17;411(6835):355-65.
- Sugita M. Taste perception and coding in the periphery. *Cell Mol Life Sci*. 2006 Sep;63(17):2000-15.
- Dinger B, He L, Chen J, Liu X, Gonzalez C, Obeso A, Sanders K, Hoidal J, Stensaas L, Fidone S. The role of NADPH oxidase in carotid body arterial chemoreceptors. *Respir Physiol Neurobiol*. 2007 Jul 1;157(1):45-54. Epub 2006 Dec 15.
- Roper SD. Signal transduction and information processing in mammalian taste buds. *Pflugers Arch*. 2007 Aug;454(5):759-76. Epub 2007 Apr 28.
- Salazar NC, Chen J, Rockman HA. Cardiac GPCRs: GPCR signaling in healthy and failing hearts. *Biochim Biophys Acta*. 2007 Apr;1768(4):1006-18. Epub 2007 Feb 20.
- Alonso MT, Barrero MJ, Michelena P, Carnicero E, Cuchillo I, García AG, García-Sancho J, Montero M, Alvarez J. Ca<sup>2+</sup>-induced Ca<sup>2+</sup> release in chromaffin cells seen from inside the ER with targeted aequorin. *J Cell Biol*. 1999 Jan 25;144(2):241-54.
- Montero M, Alonso MT, Carnicero E, Cuchillo-Ibáñez I, Albillos A, García AG, García-Sancho J, Alvarez J. Chromaffin-cell stimulation triggers fast millimolar mitochondrial Ca<sup>2+</sup> transients that modulate secretion. *Nat Cell Biol*. 2000 Feb;2(2):57-61.
- Brandman O, Liou J, Park WS, Meyer T. STIM2 is a feedback regulator that stabilizes basal cytosolic and endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> levels. *Cell*. 2007 Dec 28;131(7):1327-39.
- Várnai P, Tóth B, Tóth DJ, Hunyady L, Balla T. Visualization and manipulation of plasma membrane-endoplasmic reticulum contact sites indicates the presence of additional molecular components within the STIM1-Orai1 Complex. *J Biol Chem*. 2007 Oct 5;282(40):29678-90. Epub 2007 Aug 7.

- Nicolas Dumaz and Richard Marais. Integrating signals between cAMP and the S/RAF/MEK/ERK signalling pathways. *The FEBS Journal*, 272, 3491-3504. (2005).
- Katsuji Yoshioka. Scaffold Proteins in Mammalian MAP Kinase Cascades. *JB Minireviews. The Journal of Biochemistry*, 135, 657-661. (2004).
- Amjad Frooq and Ming-Ming Zhou. Structure and regulation of MAPK phosphatases. *CELLULAR SIGNALLING*, 16, 769-779. (2004).
- Sonia Jancar and Mariano Sanchez Crespo. Immune complex-mediated tissue injury: a multistep paradigm. *TRENDS in Immunology*, 26, 48-55. (2005). ELSEVIER
- Janson C. Mercer et Al. Large Store-operated Calcium Selective Currents Due to Co-expression of Orai 1 or Orai 2 with the Intracellular Calcium Sensor, Stim 1. *The Journal of Biological Chemistry*, 281, 2479-24990. (2006). USA
- Victoria M. Bolotina and Peter Csutora. CIF and other mysteries of the store-operated Ca<sup>2+</sup>-entry pathway. *TRENDS in Biochemical Sciences*, 30, 378-387. (2005). ELSEVIER
- Taku Sugawara et Al. Neuronal Death/Survival Signalling Pathways in Cerebral Ischemia. *The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 1, 17-25. (2004).

#### f. Garantía de Calidad.

Cada año al finalizar el curso se reúnen los profesores responsables del mismo para realizar una autoevaluación de su desarrollo. Para ello se recoge previamente la opinión de los estudiantes realizando una serie de encuestas de forma paralela con la evaluación del curso. A partir de esta primera evaluación se genera un informe que debe recoger al menos los siguientes aspectos del programa: Criterios y procedimientos de actualización y mejora del programa del curso en base al perfil formativo que se desea y a los resultados académicos de los estudiantes. Análisis de debilidades y propuestas de mejora. Criterios y procedimientos para garantizar la calidad de las prácticas en el caso de los cursos prácticos Procedimientos de atención de las sugerencias/reclamaciones de los estudiantes y grado de satisfacción de los mismos con el desarrollo del curso

#### Profesores:

Dra. M. Carmen Domínguez Lobatón  
 Dr. Francisco Javier García-Sancho Martín  
 Dra. M. Teresa Montero Zoccola  
 Dra. Lucía Nuñez Llorente  
 Dra. Ana M. de la Luz Obeso Cáceres  
 Dra. M. Asunción Rocher Martín  
 Dr. Andrés Alonso Alonso  
 Dr. Mariano Sánchez Crespo

# **BASES MOLECULARES DEL TRANSPORTE DE MEMBRANA Y LA EXCITABILIDAD CELULAR**

**Créditos: 3**

TIPO DE CURSO: Teórico o fundamental

a. Objetivos específicos:

El curso pretende ofrecer al estudiante una visión general de las membranas biológicas, desde una perspectiva estructural, biofísica y funcional. Con el primer tema se pretende que el alumno conozca la estructura y composición de la membrana, y se sientan las bases conceptuales para definir los diferentes tipos de transporte. Los temas 2 a 5 ofrecen las bases biofísicas que subyacen en la interpretación de los fenómenos de transporte desde un punto de vista termodinámico y/o cinético, y los temas siguientes (6-9) describen las diferentes familias de proteínas de membrana involucradas. Tras un tema dedicado a los métodos actualmente disponibles para estudiar la función de todas estas proteínas, el curso acaba con dos lecciones dedicadas a la transmisión sináptica y el proceso de exocitosis. El objetivo global del curso es sentar las bases conceptuales y ofrecer un marco teórico sólido a aquellos estudiantes que centren su trabajo de tesis doctoral en cualquier problema relacionado con el transporte en las membranas biológicas. No hay que olvidar que un porcentaje alto de los grupos de investigación del instituto trabajan de forma directa en problemas biológicos relacionados con estos procesos. Por otro lado, en el caso de los alumnos cuyo proyecto de tesis se centre en problemas biológicos menos relacionados, el curso pretende proporcionar el lenguaje y las bases necesarias para que el estudiante pueda acceder a la literatura científica en al que se haga referencia o se utilicen procedimientos metodológicos descritos en este curso.

b. Contenido:

1. BIOMEMBRANAS Y TRANSPORTE. Composición de las membranas biológicas, estructura y recambio. Composición de los fluidos intra y extracelulares. Flujo de agua a través de las membranas biológicas: balance osmótico. Movimientos de solutos y mecanismos de transporte.

2. TERMODINAMICA DEL TRANSPORTE DE MEMBRANA. Potencial químico de un soluto. Cambios en la energía libre asociados a los flujos de soluto. Potencial electroquímico. El efecto Gibbs-Donnan y sus consecuencias en el equilibrio electroquímico y osmótico de las células. Acoplamiento bioenergético de los procesos de transporte.

3. CINÉTICA DEL TRANSPORTE DE MEMBRANA. Difusión. Cinética del transporte de sustancias lipofílicas: Difusión simple. Cinética del transporte mediado por proteínas de membrana. Diferencias cinéticas entre los distintos mecanismos de transporte.

4. POTENCIAL DE MEMBRANA. EQUILIBRIOS IÓNICOS. Propiedades eléctricas de las membranas. Mantenimiento de la distribución de iones. Potencial de difusión y potencial de equilibrio: ecuación de Nernst. Potencial de membrana y permeabilidades iónicas. Mantenimiento del potencial de reposo.

5. BASES DE LA EXCITABILIDAD DE LA MEMBRANA. El potencial de acción. Flujos iónicos responsables del potencial de acción. Reconstrucción del potencial de acción: el modelo de Hodgkin y Huxley.

6. PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS QUE CREAN GRADIENTES DE SOLUTOS. Transporte activo primario. Estructura y función de las ATPasas. El transporte de Na-K como modelo de transporte activo.

7. PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS QUE PROPAGAN GRADIENTES DE SOLUTO. Transporte activo secundario. Cotransportadores e intercambiadores. Transporte de solutos acoplado al gradiente de sodio.

8. PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS QUE DISIPAN GRADIENTES DE SOLUTO I. La superfamilia de los canales iónicos activados por voltaje: Estructura, función y evolución. Bases

moleculares de la dependencia de voltaje y la permeabilidad selectiva. Contribución de los canales iónicos dependientes de voltaje al mantenimiento de la excitabilidad celular. Canalopatías.

9. PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS QUE DISIPAN GRADIENTES DE SOLUTO II. La superfamilia de los canales iónicos operados por ligando. Receptores ionotropos y metabotropos: estructura, modulación y funciones. El receptor nicotínico de acetilcolina como paradigma de los canales activados por ligandos.

10. TÉCNICAS PARA EL ESTUDIO DEL TRANSPORTE DE MEMBRANA. Purificación y reconstrucción de las proteínas transportadoras. Expresión en sistemas heterólogos. Métodos ópticos y electrofisiológicos. Estudios de relación estructura-función de las proteínas transportadoras. Abordajes genéticos para analizar la función de las proteínas transportadoras.

11. TRANSMISIÓN SINÁPTICA. Introducción. Sinapsis excitatorias e inhibitorias. Potenciales postsinápticos. Identificación de neurotransmisores: aminas, aminoácidos y péptidos. Manipulación farmacológica de la actividad sináptica.

12. EXOCITOSIS. Introducción. Concepto de acoplamiento estímulo-secreción. Demostración experimental de la exocitosis en la célula cromafín. Gránulos secretores y vesículas sinápticas. Modelo general del tráfico de vesículas sinápticas: movilización, cebo, atraque, fusión y reciclaje. Maquinaria molecular de fusión y mecanismos de liberación: el complejo de fusión. El endosoma y el pool de vesículas estables.

### c. Metodología

El curso consta de dos tipos de actividades claramente diferenciadas: Unas sesiones teóricas, en las que los profesores explican los contenidos antes reseñados. Estas sesiones tienen la estructura de una lección magistral, aun cuando el bajo número de alumnos permite un diseño más interactivo con el fin de favorecer la participación del alumno. Unas sesiones prácticas, en las que los alumnos exponen públicamente (a compañeros y profesores del curso) trabajos monográficos relacionados con los temas tratados en las sesiones teóricas. Cada alumno es tutorizado por un profesor, que le facilita los artículos y revisiones científicas en que se basará su exposición y le orienta y asesora sobre la mejor realización de la misma. La exposición dura entre 20 y 30 minutos y a continuación se abre un coloquio en el que participan profesores y alumnos.

### d. Criterios de evaluación

La evaluación se basa en dos pilares. Por una lado un examen convencional, en el que el alumno tiene que desarrollar un tema y/o resolver o interpretar un experimento descrito en algún artículo relacionado con el curso. Por otro lado se valora el trabajo monográfico realizado por el alumno. Se valora además del grado de comprensión y profundización científica, la claridad en la exposición y la metodología empleada, ya que uno de los fines que se persiguen es que los alumnos aprendan a exponer en público sus propios resultados de investigación en un futuro. Otro de los criterios utilizados para la evaluación es la asistencia y grado de participación en las sesiones teóricas

### e. Bibliografía

- Biomembrane Transport, Lon J. Van Winkle, Academic Press 1999 Ion Channels of Excitable Membranes, Bertil Hille, 3 Edition, Sinauer 2001

### f. Garantía de Calidad.

Cada año al finalizar el curso se reúnen los profesores responsables del mismo para realizar una autoevaluación de su desarrollo.

Profesores:

Dr. Javier Alvarez Martín



Dra. Rosalba Inés Fonteriz García  
Dr. Constancio González Martínez  
Dr. José Ramón López López  
Dr. Ricardo Jaime Rigual Bonastre  
Dr. Carlos Villalobos Jorge

## **ENFERMEDADES INFLAMATORIAS Y AUTOINMUNES: FISIOPATOLOGÍA MOLECULAR**

**Créditos: 3**

TIPO DE CURSO: Teórico o fundamental

a. Objetivos generales:

1) Se pretende que el alumno adquiera conocimientos a nivel teórico-práctico de una serie de aspectos de interés tanto en la investigación básica como aplicada, con especial atención a la fisiopatología molecular de las enfermedades mencionadas, así como a las implicaciones diagnósticas y de diseño de nuevas estrategias. Se ofrece en el curso una visión amplia de los fundamentos teóricos, que termina integrándose en cada uno de los proyectos de investigación que desarrollan los profesores del curso.

b. Objetivos específicos:

Se pretende que el alumno conozca las bases teóricas de las enfermedades inflamatorias y autoinmunes, y sea capaz de valorar, analizar e interpretar estos conocimientos en el contexto de las líneas de investigación que se presentan, familiarizándose con su diseño y su aplicación a un proyecto concreto.

c. Contenidos del curso:

Los contenidos teóricos se desarrollarán de acuerdo a 7 bloques, que serán desarrollados por un profesor diferente, implicado en proyectos de investigación relacionados con el tema tratado. Estos bloques y las personas responsables son los siguientes: -Inmunidad e inflamación: aspectos generales. Alfredo Blanco-Quirós -Regulación de la producción de mediadores lipídicos. M. Angeles Balboa. -Toxicidad del oxígeno y antioxidantes. Silvia López Burillo -Mecanismos de inmunorregulación el intestino. Eduardo Arranz -Enfermedad inflamatoria crónica del intestino. José Antonio Garrote. -La lesión arterial. Mariano Sánchez Crespo. -Señalización intracelular. Andrés Alonso García

d. Metodología:

En una serie de sesiones teóricas se explican los conceptos básicos y los fundamentos de la fisiopatología molecular. Estas sesiones se imparten a un grupo reducido de alumnos (máximo de 10) y tienen un diseño interactivo, que trata de fomentar la participación del alumno. Previamente al comienzo de la sesión, los alumnos tienen el guión de las charlas y el material gráfico utilizado, que incluye además información sobre artículos y direcciones de Internet.

e. Criterios de evaluación:

Se propondrá a grupos de 3-4 alumnos un tema para realizar la búsqueda bibliográfica seleccionando un trabajo de investigación publicado, en el que deberán valorar los objetivos, adecuación de la metodología utilizada, y resultados obtenidos. Los alumnos realizarán este trabajo durante el curso, y será presentado formalmente al final del mismo, junto a una discusión de los aspectos citados. Todos los profesores discutirán los aspectos que crean oportunos y podrán plantear nuevas preguntas al alumno. Entre los temas seleccionados están: Fundamentos teóricos de la inmunoterapia en enfermedades autoinmunes; Inmunoterapia de la enfermedad inflamatoria intestinal; Papel de los mediadores lipídicos en la enfermedad de Alzheimer, Flora saprofita como inmunomodulador de la respuesta inmune intestinal; y Vías de señalización intracelular (STAT, TGFb/Smad3) en la inflamación intestinal.

f. Bibliografía (seleccionada para uno de los bloques)

- Chirido FG et al. Immunomodulatory dendritic cells in intestinal lamina propria. *Eur J Immunol* 2005;35:1831-40.
- Hart AL et al. Modulation of human dendritic cells phenotype and function by probiotic bacteria. *Gut* 2004;53:1602-9.
- Isolauri E et al. Probiotics: effects on immunity. *Am J Clin Nutr* 2001;73:444-50.
- Kelly D et al. Commensal gut bacteria: mechanisms of immune modulation. *Trends Immunol* 2005;26:326-33.
- Mazmanian SK et al. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell* 2005;122:107-18.
- Mahnke K et al. Induction of tolerogenic DCs: you are what you eat. *Trends Immunol* 2003;24:646-51.
- Mowat AMcl. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol* 2003;3:331-41.
- Rescigno M et al. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nat Immunol* 2001;2:361-7.
- Rossi M, Young JW. Human dendritic cells: potent antigen-presenting cells at the crossroad of innate and adaptive immunity. *J Immunol* 2005;175:1373-81.
- Rakoff-Nahoum S et al. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell* 2004;118:229-41.
- Stagg AJ et al. Intestinal dendritic cells increase T cell expression of  $\alpha 4\beta 7$  integrin. *Eur J Immunol* 2002;32:1445-54.
- Strobel S, Mowat AMcl. Oral tolerance and allergic responses to food proteins. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2006;6:207-13.
- Williamson E et al. Regulation of mucosal dendritic cell function by receptor activator of NF- $\kappa$ B (RANK)/RANK ligand interactions: impact on tolerance induction. *J Immunol* 2002;169:3606-12.

#### g. Garantía de calidad

La evaluación de calidad del curso se realiza mediante una primera encuesta a los alumnos al final del curso, que permite obtener información respecto al grado de consecución de los objetivos propuestos, y una segunda encuesta a aquellos que han realizado 3-4 años atrás, y se encuentran en las etapas finales de la elaboración y defensa de la tesis doctoral, que proporciona información sobre la utilidad y aplicabilidad concreta de los conocimientos y destrezas obtenidos en el curso. Los resultados obtenidos en estos dos tipos de encuesta se evalúan por los profesores del curso para decidir que aspectos conceptuales, metodológicos y prácticos es necesario modificar.

#### Profesores:

Dr. Eduardo Arranz Sanz  
 Dra. M. Angeles Banboa García  
 Dr. Alfredo Blanco Quirós  
 Dr. José Antonio Garrote Adrados  
 Dra. Silvia Pilar López Burillo  
 Dr. Mariano Sánchez-Crespo

## ENFERMEDADES GENÉTICAS: FISIOPATOLOGÍA MOLECULAR

**Créditos: 3**

TIPO DE CURSO: Teórico o fundamental

Descripción del curso:

La Escuela Europea de Medicina Genética (ESGM) ha estado ofreciendo cursos de formación a jóvenes investigadores en los campos de Genética y Genómica durante dieciocho años. Hasta ahora, estos cursos han sido ofrecidos exclusivamente por el Main Training Centre (MTC, primero en Sestri Levante y actualmente en Bertinoro en la Emilia-Romaña) en Italia. Las tecnologías disponibles hoy, permiten a la ESGM ofrecer sus cursos a estudiantes que no puedan viajar a Bertinoro. La asistencia a estos cursos se realiza en directo mediante videoconferencia (webcasting) en Centros Satélite Autorizados (CSAs) en todo el mundo. En el CSA de la Universidad de Valladolid, se proyectan las conferencias de la ESGM y se siguen de discusión de las sesiones y de talleres relacionados con los temas tratados. Estos talleres son impartidos por los programas del Curso de doctorado "ENFERMEDADES GENÉTICAS: FISIOPATOLOGÍA MOLECULAR". Para conseguir la máxima interactividad durante estas sesiones, los profesores del curso discuten las lecciones y proponen y recogen las preguntas de los estudiantes que son enviadas por e-mail a los profesores de la ESGM. Las respuestas y comentarios se atienden en directo vía web.

Como referencia, el temario del último año ha sido el siguiente:

Saturday, May, 5th. Introduction to Genetic Analysis.

Morning Session,

08:30 V.A. McKusick. Some new perspectives on the history of medical genetics and genomics.

09:30 H. Brunner. Genotypes and phenotypes.

10:30 Coffee Break.

11:00 G. Stevanin. Linkage analysis.

12:00 B. Emanuel. FISHing for "Breaks" on Chromosome 22: A Paradigm for the Analysis of Genomic Disorders.

12:45 Questions from students on morning lectures.

13:00 Lunch break. Afternoon Session

14:30 TALLERES EN EL CSA.

16:00 Coffe Break

16:30 TALLERES EN EL CSA. Sunday, May 6th. Clinical Genetics and Cytogenetics

Morning Session

08:30 H. Brunner. Chromosomal syndromes.

09:30 M. Speicher. Development of technologies for the new cytogenetics.

10:30 Coffee Break.

11:00 B. Emanuel. Studies to find Modifier Genes for the 22q11.2 Deletion.

12:00 S. Antonarakis. Aneuploidy.

12:45 Questions from students on morning lectures.

13:00 Lunch break. Afternoon Session

14:30 TALLERES EN EL CSA. 16:00 Coffe Break

16:30 TALLERES EN EL CSA.

Monday, May 7th. From clinical observations to the lab

Morning Session

08:30 S. Antonarakis. Nature and consequences of human gene mutations.

09:30 H. Brunner. Understanding genetic heterogeneity.

11:00 Coffee Break

11:30 G. Matthijs. Disorders of glycosylation.

12:00 J. Mendell. MicroRNAs.

12:45 Questions from students on morning lectures.

13:00 Lunch break. Afternoon Session

14:30 TALLERES EN EL CSA.

16:00 Coffe Break

16:30 TALLERES EN EL CSA.

Tuesday, May 8th. Translational research in genetics

Morning Session

08:30 N. Katsanis. Dissecting oligogenic traits.

09:30 G. Romeo. Mitochondrial mutation and cancer.

10:30 Coffee Break.

11:00 G. Stevanin. Genetic and physiopathological aspects of spastic paraplegias.

12:00 N. Katsanis. The vertebrate cilium: new roles for an ancient organelle.

12:45 Questions from students on morning lectures.

13:00 Lunch break.

Afternoon Session Free Afternoon

Wednesday, May 9th. System Biology and Animal Models

Morning Session

08:30 D. di Bernardo. System Biology approaches to drug discovery and gene function.

09:30 P. Lichter. Challenges in Tumor Genetics Approached by Molecular Profiling.

10:30 Coffee Break.

11:00 T. Dragani. Genetic predisposition to lung cancer: from mice to humans.

12:00 M. Capecchi. Modeling Human Disease in the Mouse

12:45 Questions from students on morning lectures.

13:00 Lunch break. Afternoon Session

14:30 TALLERES EN EL CSA.

16:00 Coffe Break

16:30 TALLERES EN EL CSA.

Thursday, May 10th. Neurogenetics Morning Session

08:30 D. Monckton. Myotonic dystrophy: simple repeats in a complex disorder.

09:30 J. L. Mandel. Fragile X syndrome.

10:30 Coffee Break.

11:00 D. Monckton. Molecular mechanisms of genetics instability in the triplet repeat disorders.

12:00 A. Spinazzola. Mitochondrial neuropathies.

12:45 Questions from students on morning lectures.

13:00 Lunch break. Afternoon Session 14:30 TALLERES EN EL CSA.

16:00 Coffe Break

16:30 TALLERES EN EL CSA.

Friday, May 11th. Diabetes as a model complex genetic disorder Morning Session

08:30 J. Todd. Genetic analysis of common disease using genome-wide association.

09:30 F. Cucca. Genetic analysis of complex traits in isolated populations: facts and myths.

10:30.-Coffee Break.

11:00 T. Meitinger. Genome-wide association studies for quantitative traits in man.

12:00 A. Metspalu. The Estonian Genome project.

12:45 Questions from students on morning lectures

**Talleres** Fibrosis quística como modelo de enfermedad recesiva. Consejo genético. Aproximación al estudio de las enfermedades oculares. Consejo Genético y enfermedades del adulto. Análisis de ligamiento con ordenador. Genotipo y fenotipo en hipoacusia hereditaria. Genética de la sordera. Diagnóstico molecular. Genética del cáncer. Cáncer de mama y cáncer de colon. El Síndrome X Frágil. Nuevas estrategias. Manipulación de expresión génica en modelos animales I: el modelo de ratón. Estrategias de pérdida de función. Manipulación de expresión génica en modelos animales I: el modelo de ratón. Estrategias de ganancia de función. Mutación somática y enfermedad hereditaria. Generación de variabilidad a partir del ADN. Técnicas citogenético-moleculares en la resolución de problemas diagnósticos. Algunos ejemplos de análisis estadístico con lápiz y papel. Repercusión de las translocaciones cromosómicas.

Diagnóstico prenatal: estrategias y problemas. Diagnóstico prenatal no invasivo en células fetales y ADN fetal procedente de sangre materna. Manipulación de expresión génica en modelos animales III: el modelo de Drosophila. Estrategias de pérdida de función. Esterilidad e infertilidad: ejemplo de estudio multidisciplinar. Estrategias diagnósticas con técnicas moleculares. Enfermedad de Huntington como modelo. Farmacogenética en el asma. Del laboratorio a la clínica.

Profesores:

Dra. M. Jesús Alonso Ramos

Dra. Mercedes Durán Domínguez

Dra. Isabel Fernández Carvajal

Dra. Cristina Miner Pino

Dr. Juan José Tellería Orriols

Dr. Eladio Andrés Velasco Sampedro

## **APLICACIONES DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR EN BIOMEDICINA**

**Créditos: 3**

TIPO DE CURSO: Teórico o fundamental

a. Objetivos generales:

1) Se pretende que el alumno adquiera conocimientos a nivel teórico-práctico de una serie de técnicas de Biología Molecular de interés tanto en la investigación básica como en la Biomedicina aplicada, con especial atención en aquellas técnicas relacionadas con el diagnóstico, seguimiento y terapia de enfermedades humanas. Se ofrece en el curso una visión amplia de un gran número de técnicas, sus fundamentos teóricos, su potencial para el estudio de problemas biológicos y también se consideran sus limitaciones

2) El curso consta de un primer bloque teórico de Fundamentos de Biología Molecular, constituido los siguientes apartados: I)-Conceptos básicos de Biología Molecular y Genética II)-Regulación de la expresión Génica III)-Organización Genómica Un segundo bloque tratará en detalle los fundamentos y aplicaciones de Técnicas de Análisis y Alteración de la Expresión Génica (técnicas de genómica, proteómica, generación de animales transgénicos y terapia génica, estando constituido por los siguientes apartados IV)-Técnicas Genómicas V)-Técnicas de Análisis y Alteración de la Expresión Génica. Generación de Organismos Transgénicos VI)-Proteómica VII)-Terapia Génica VIII)-Un tercer bloque teórico-práctico iniciará al estudiante en el Uso de Recursos Informáticos en Biología y Genética Molecular, de uso rutinario en las tecnologías analizadas en los bloques anteriores.

3) En el campo de los contenidos transversales se pretende que el alumno sea capaz de valorar, analizar e interpretar los resultados obtenidos con estas técnicas, familiarizándose con su diseño y su aplicación en proyectos concretos. Este aspecto constituirá además un elemento importante en la evaluación del curso.

b. Objetivos específicos:

1) Fundamentos de Biología Molecular: En esta sección el alumno se familiarizará con los conceptos básicos de biología y genética molecular necesarios para la mejor comprensión del resto del programa, tales como la organización genómica, expresión génica y su regulación y la tecnología del DNA recombinante.

2) Técnicas de Análisis y Alteración de la Expresión Génica: En esta sección teórica se pretende que los alumnos obtengan conocimientos acerca de los fundamentos y usos de una serie de técnicas de análisis y de manipulación de la expresión génica. Se profundiza en las técnicas de análisis del transcriptoma a nivel genómico, y de las técnicas de manipulación genética en organismos modelo, estimulando una actitud crítica en cuanto a la validez, usos, ventajas y desventajas de cada técnica tratada.

3) Uso de Recursos Informáticos en Biología y Genética Molecular: Se pretende que los alumnos se inicien en el uso de algunas herramientas bioinformáticas (de libre acceso en Internet) de aplicación rutinaria en las técnicas tratadas en las secciones anteriores del curso: Determinación de la similitud de secuencia y estructura de ácidos nucleicos y proteínas. Análisis filogenético de los componentes de una familia de proteínas. Análisis de secuencias genómicas y de mRNA. Análisis de las propiedades de las proteínas derivadas de su estructura primaria. Determinación de la estructura secundaria de las proteínas. Conocimiento de otras herramientas bioinformáticas de uso común en biología molecular como el diseño de oligonucleótidos para PCR y el diseño de péptidos para inmunización.

## b. Contenido

1) Fundamentos de Biología Molecular (I, II, III): Se estudiarán detalladamente los aspectos de la regulación de la expresión génica a nivel transcripcional y postranscripcional, el papel de la cromatina, el esplicing y transporte del RNA mensajero al citoplasma, regulación traduccional y postraduccional, considerando los aspectos del plegamiento y degradación de proteínas. Con respecto a la organización genómica, se estudiarán los mecanismos de evolución de los genes y la organización genómica en bacterias y eucariotes (DNA de copia única, DNA repetido codificante y no codificante y DNA móvil, así como los nuevos descubrimientos sobre RNAs no codificantes (Interferencia de RNA, micro RNAs, RNAs naturales antisentido (NATs) y riboconmutadores), haciendo referencia a su estudio mediante experimentos "in silico" que se ampliarán en el último apartado del programa.

### 2) Técnicas de Análisis y Alteración de la Expresión Génica:

IV) -Técnicas genómicas: Se estudiarán primero una serie de técnicas básicas para el estudio de DNA y RNA (Northern blott; ensayo de protección de RNAsa (RNase protection, RPA), Interacciones DNA-proteína (Gel de retardo, Técnica de Foot-printing; ensayo funcional de transcripción (Genes reporteros in Vitro y Genes reporteros in vivo); amplificación de DNA (PCR, RT-PCR, PCR cuantitativa); análisis del genoma (Genotecas de cDNA y DNA genómico) y secuenciación de ácidos nucleicos

V) -Técnicas de Análisis y Alteración de la Expresión Génica. Se estudiarán los siguientes apartados:

-Herramientas y estrategias en genética funcional: ganancia y pérdida de función -Introducción al silenciamiento génico, oligonucleótidos antisentido, morfolinós, ribozimas. Mecanismos de acción y estrategias de diseño.

-Interferencia de RNA y silenciamiento por RNA: Antecedentes, mecanismos, elementos involucrados, funciones en distintos organismos.

-Aplicaciones de la interferencia de RNA en biotecnología y medicina: métodos de introducción, regulación y control del silenciamiento.

-Técnicas para la introducción de genes en células y organismos, comparación entre vectores virales y no virales -Análisis de los métodos de transfección: métodos químicos, físicos y eléctricos. Ventajas, inconvenientes y aplicaciones.

-Concepto de expresión génica diferencial. -Técnicas de análisis de la expresión génica. -Sistemas abiertos (Hibridación sustractiva, Differential display y SAGE). -Sistemas cerrados (Micromatrices-"microarrays").

-Tecnologías de micromatrices. (Tipos de micromatrices: cDNA; oligonucleótidos; SNP; reversas. Sistemas de detección y análisis: doble fluorocromo; señal única. Algoritmos estadísticos aplicados a la señal. Criterios de selección. Análisis de resultados. Ontología génica).

-Organismos modelo: Bacterias, levaduras, Arabidopsis thaliana, Caenorhabditis elegans, Drosophila melanogaster, pez cebra, ratón. -Generación de animales mutantes con pérdida de función. mutagénesis química; mutagénesis por rayos X; knock-out; knock-down.

-Generación de animales con ganancia de función: sobre-expresión; expresión ectópica. Sistema GAL-4 en Drosophila. -Generación de animales con mutaciones condicionales. Sistema cre-loxP en ratón y en Drosophila.



VI) -Proteómica. En el campo de la proteómica se estudiarán técnicas para el análisis de la abundancia, cambios de expresión y modificaciones postraduccionales de proteínas, así como técnicas de análisis de interacciones moleculares entre proteínas:

- Métodos de separación de proteínas
- Electroforesis bidimensional
- DIGE (differential in-gel electrophoresis).
- Free-flow electrophoresis -Cromatografía de afinidad.
- Extracción y digestión de proteínas.
- Espectrometría de masas. Espectrómetro de masas. Fuentes iónicas: MALDI (Matrix assisted laser desorption ionization). ESI (Electrospray ionization). Analizadores de masas: TOF (Time of flight). Quadrupole. Ion trap. FT-ICR (Fourier-transform ion cyclotron resonance).

En el campo de las técnicas de análisis de interacción de proteínas se estudiarán los métodos:

- Protein arrays
- Yeast-two hybrids
- Phage display
- Surface plasmon resonance energy transfer
- FRET.

VII) -Terapia Génica. Se estudiará en primer lugar la evolución de la terapia génica desde sus comienzos, analizando la problemática científica, social y legal de estas técnicas. Se estudiarán después los métodos de transferencia de genes al ser humano, con especial hincapié en los vectores virales, ya que otros métodos han sido tratados en apartados anteriores (Vectores retrovirales, lentivirales, adenovirales, basados en virus adenoasociados, virus herpes, virus de la vacuna y virus pox), considerando en detalle sus métodos de construcción y el balance entre eficacia y seguridad. Se analizarán los tipos de enfermedades tratadas y las razones para el escaso tratamiento, desde un punto de vista cuantitativo de las enfermedades genéticas monogénicas mediante estas técnicas. Se detallarán casos paradigmáticos de enfermedades concretas tratadas mediante terapia génica, analizando los resultados obtenidos. Especialmente se tratarán los resultados obtenidos por Fischer y Bordignon analizando los resultados adversos y sus posibles causas (activación insercional, oncogenicidad del transgen, etc). Se analizarán los ensayos realizados en España. Se considerarán las posibles estrategias de terapia mediante RNA

VIII) -Uso de Recursos Informáticos en Biología y Genética Molecular: Los aspectos tratados serán:

- Introducción a la Biología Computacional y Bioinformática. Recordatorio de términos biológicos y bioinformáticos clave que se usan en el curso.
- Análisis de datos de una secuencia problema procedente de la clonación de una unidad de transcripción.
- Diseño de oligonucleótidos y péptidos, y análisis de secuencia usados en ingeniería genética.

### c. Metodología

En una serie de sesiones teóricas se explican los conceptos básicos y los fundamentos técnicos y de los sistemas de análisis. Estas sesiones se imparten a un grupo reducido de alumnos (máximo de 10) y tienen un diseño interactivo, que trata de fomentar la participación del alumno. Previamente al comienzo de la sesión, los alumnos tienen el guión de las charlas y el material gráfico utilizado, que incluye además información sobre artículos y direcciones de internet donde pueden ampliar los aspectos que les resulten más interesantes. En la sección de Utilización de Recursos Informáticos, los alumnos llevan a cabo todos los objetivos utilizando un ordenador personal conectado a Internet. Asimismo, cada alumno cuenta con material específico para las

tareas a realizar (secuencias génicas problema) que son personalizadas y elegidas por el profesor según el proyecto de investigación en el que se centrará la formación del alumno. Los alumnos cuentan con un guión detallado de los objetivos, las tareas específicas a realizar, y una lista de los sitios web que utilizarán. El profesor lleva a cabo una breve introducción de conceptos básicos de Biología Computacional y Bioinformática. La presentación de dicha introducción la tienen también disponible los alumnos previamente. En la parte práctica, y en paralelo con los alumnos, el profesor lleva a cabo los objetivos propuestos con una secuencia génica problema diferente, y va guiando a los alumnos asistiéndose de la proyección en pantalla de su ventana informática. d. Criterios de evaluación Se propondrá a cada alumno un tema para la realización de un mini-proyecto de investigación en el que tendrán que utilizar técnicas estudiadas en el curso. Deberán elaborar un trabajo escrito en el que plantearán una serie de objetivos concretos y el desarrollo de la metodología a utilizar, explicando el principio básico de esa metodología, la justificación de su uso, los pasos que deben realizarse y los resultados que se esperan obtener. A la vista de estos trabajos, los profesores podrán plantear nuevas preguntas al alumno. Alternativamente se podrá proponer al alumno un trabajo de investigación ya publicado, en el que deberá valorar la adecuación de la metodología utilizada con los objetivos propuestos y logros alcanzados. Se le pedirá proponer otros métodos alternativos de análisis comparándolos con los realmente utilizados.

#### e. Bibliografía

- Alberts, et al Molecular Biology of the Cell. Garland Publishing, 4th ed. 2002. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?CMD=search&DB=books>)
- Lodish et al. Molecular Cell Biology. Freeman and Co. Publ. 5th ed. 2003. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?CMD=&DB=books>)
- BioRom (SEBBM)([http://www.bmbq.uma.es/av/av\\_bma](http://www.bmbq.uma.es/av/av_bma), <http://www.uah.es/otrosweb/biomodel/>)
- E. Nudler, A. s. Mironov. The riboswitch control of bacterial metabolism TIBS (2003)29:11-17 - G. Casari et al. In search of antisense. TIBS (2004) 29:88-94
- S. R. Eddy. Non-coding RNA genes and the modern RNA world. Nature Rev. Genetics (2001) 2: 919-929
- J. S Mattick. Challenging the dogma: the hidden layer of non-protein-coding RNAs in complex organisms. BioEssays (2003) 25:930-039
- D. Weigel et al. Control of leaf morphogenesis by microRNAs. (2003) Nature 425:257-263
- RNAi: A Guide to Gene Silencing (G J. Hannon ed), Cold Spring Harbor Laboratory Press,2003
- Gaur RK and Rossi JJ Therapeutic applications of RNAi Biotechniques, supplement to April volume, 2006
- Washbourne P and McAllister AK. Techniques for gene transfer into neurons. Curr Op Neurobiol 12, 566-73, 2002
- Arenz C, Schepers U RNA interference: from and ancient mechanism to a state of the art therapeutic application?Naturwissenschaften 90, 345-359, 2003
- Davison BL and Boudreau RL. RNA interference: A tool for querying nervous system function and an emerging therapy. Neuron 53, 781-88, 2007-04-26
- Denli AM and Hannon GJ. RNAi: an ever-growing puzzle. TIBS 28, 196-214, 2003
- Elbashir SM, Harborth J, Weber K and Tuschl T. Analysis of gene function in somatic mammalian cells using siRNAs. Methods 26, 199-213, 2002.
- Pei Y, Tuschl T. On the art of identifying effective and specific siRNAs. Nature methods 3, 670-76, 2006
- Sontheimer EJ and Carthew RW. Silence from within: Endogenous siRNAs and miRNAs. Cell 122, 9-12, 2005
- Sontheimer EJ. Assembly and function of RNAi silencing complexes. Nature Reviews Mol Cel Biol, 6, 127-137, 2005
- Li CX, Parker A, Menocal E, Xiang S, Borodyansky L, Fruehauf JH. Delivery of RNA interference. Cell Cycle 5, 2103-09, 2006 -J.G. Sutcliffe (2001)

- Open-System Approaches to Gene Expresión in the CNS. J. Neurosci. 21:8306-8309.
- S.H. Friend y R.B. Stoughton (2002) Micromatrices de ADN. Investigación y Ciencia, Abril:50-57. -W.W. Gibas (2004) El Genoma Oculto. Investigación y Ciencia, Enero:6-13.
- A. Butte (2002) The use and análisis of microarray data. Nature Reviews. 1:951-960.
- Díaz, E. et al. (2002) Molecular analysis of gene expression in the developing pontocerebellar projection system. Neuron 36:417-434.
- The Scientist (June 2, 2003). Special Issue on Model Organisms.
- A. Rojas-Muñoz, A.B. Miana y J.C. Izpisúa-Belmonte (2007) El pez cebra, versatilidad al servicio de la biomedicina. Investigación y Ciencia, Marzo: 62-69.
- S.T. Thibault et al. (2004) A complementary transposon tool kit for *Drosophila melanogaster* using P and piggyback. Nature Genetics, 36:283-287.
- Bookshelf en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- K. V. Morris. Therapeutic potential of siRNA-mediated transcriptional gene silencing. BioTechniques (2007) 40:S7-S13
- C. M. Rondinone. Therapeutic potential of RNAi in metabolic diseases. BioTechniques (2007) 40:S31-S36
- K. Mukherjee et al. RNA interference: biology, mechanism and applications. Microbiol. Mol. Biol. Rev. (2003)67:657-685
- J. Spink, D. Geddes. Gene therapy progress and prospects: bringing gene therapy into medical practice: the evolution of international ethics and the regulatory environment. Gene Therapy (2004) 11,1611-1616
- W. F. Anderson. T Lymphocyte-directed gene therapy for ADA-SCID: initial trial results after 4 years. Science (1995) 270:475-480
- A. Pfeifer, I. M. Verma. Gene therapy: promises and problems. Ann. Rev. Genomics Hum. Genet. (2001) 2:177-211
- W. C. Russell. Update on adenovirus and its vectors. J. Gen. Virol. (2000) 81,2573-2604
- W. Hu, V. K. Pathak. Design of retroviral vectors and helper cells for gene therapy. Pharmacol. Rev (2000) 52:493-511
- A. Fischer et al. Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. Science (2000) 288:669-672
- M. Cavazzana-Calvo et al. LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. Science (2003)302:415-419
- C. Bordignon et al. Correction of ADA-SCID by stem cell gene therapy combined with nonmyeloablative conditioning. Science (2002) 296:2410-2413
- M. Shawn et al. Transcription start regions in the human genome are favored targets for MLV integration. Science (2003)300:1749-1751
- F. Mavilio et al. Retroviral vector integration deregulates gene expression but has no consequence on the biology and function of transplanted T cells. PNAS (2006) 103:1457-1462
- Hans-Peter et al. High incidence of leukaemia in large animals after stem cell therapy with a *HOXB4*-expressing retroviral vector. Kiem. The Journal of Clinical Investigation, (2008) 118 (4):1502-1510
- Inder M. Verma et al. Therapeutic gene causing lymphoma.. Nature (2006) 440:1123
- Manuel Grez et al. Correction of X-linked chronic granulomatous disease by gene therapy, augmented by insertional activation of *MDS1-EVI1*, *PRDM16* or *SETBP1*. Nature Medicine (2006) 12:401- 409
- N. Brunetti-Pierri and P. Ng. Progress and prospects: gene therapy for genetic diseases with helper-dependent adenoviral vectors. Gene Therapy (2008) 15: 553-560
- Tyler Jacks et al. Restoration of p53 function leads to tumour regression in vivo.. Nature (2007) 445: 661- 665
- Daniel H. Kim and John J. Rossi. Strategies for silencing human disease using RNA interference. Nature Reviews (2007) 8: 173-184
- Introduction to Bioinformatics. Arthur M. Lesk. Oxford University Press, Oxford OX2 6DP. ISBN (Pbk)0 19 925196 7 (2002).

- Current Protocols In Bioinformatics. Andreas D. Baxevanis, Daniel B. Davison, Roderic D. M. Page, Gregory A. Petsko, Lincoln D. Stein, Gary D. Stormo. John Wiley & Sons, Inc. ISBN 0-471-25093-7 (2003).

#### f. Garantía de calidad

La evaluación de calidad del curso se realiza típicamente en dos fases.

En una primera fase, la realización de una encuesta a los alumnos que han realizado el curso al finalizar el mismo, permite obtener información respecto al grado de consecución de los objetivos propuestos, detectando los puntos fuertes y débiles en el diseño del curso en relación con los contenidos, la metodología y la planificación del mismo.

En una segunda fase, se realiza una segunda encuesta a los alumnos que han realizado el curso al cabo de 3-4 años, cuando todos ellos están en los estadios finales de la elaboración y defensa de su trabajo de tesis doctoral. Esta segunda encuesta proporciona información sobre la utilidad y aplicabilidad concreta de los conocimientos y destrezas obtenidos en el curso, siendo por tanto un medidor más fiable de la pertinencia del curso en términos generales.

Los resultados obtenidos en estos dos tipos de encuesta se evalúan por los profesores del curso para decidir que aspectos conceptuales, metodológicos y prácticos es necesario modificar.

Profesores:

Dr. Andrés Alonso García  
Dra. M. Dolores Ganfornina Alvarez  
Dra. M. Carmen García Rodríguez  
Dr. Alfredo Moreno Díaz-Calderón  
Dra. M. Teresa Pérez García  
Dr. Diego Sánchez Romero

## **DESARROLLO, DIFERENCIACIÓN Y TERAPIA CELULAR**

**Créditos: 3**

TIPO DE CURSO: Teórico o fundamental

El curso se impartirá en horario de tarde (17 a 19 horas) y en el Seminario de Bioquímica. Consta de 3 créditos que se repartirán de la forma siguiente:

### **PRIMER BLOQUE:**

DE LA CÉLULA AL EMBRIÓN (6horas) Día 3/5: Mitosis y Meiosis. (2 horas = 1 día): M Josefa Blanco Rodriguez Panorámica del ciclo celular. Control del ciclo celular mitótico. Mecanismos de seguridad: puntos de chequeo. Monitorización de la integridad del DNA. Factores de crecimiento. Función de las señales generadas en las estructuras de adhesión celular. Meiosis: Control del ciclo celular meiótico Tema del seminario: Control "social" de la supervivencia. Día 4/5: Bases biológicas y funcionales de la reproducción humana. Aspectos fundamentales de la biología reproductiva: foliculogénesis, ovulación y función del cuerpo lúteo, espermatogénesis, fecundación, implantación y desarrollo embrionario precoz. (2horas= 1 día): Dr. José M<sup>a</sup> Fernández Tema de seminario: Factores que determinan la implantación embrionaria. Día 5/5: Trastornos de la capacidad reproductiva. Epidemiología y etiología de la esterilidad y la infertilidad humana. Diagnóstico de la esterilidad y la infertilidad. Tratamiento de la esterilidad. Técnicas de reproducción asistida. Bases de la inducción de la ovulación y de la estimulación ovárica. Descripción general y evolución de las técnicas de reproducción asistida. (2 Horas= 1 día) Dr. Federico Pérez Milán Tema de seminario: Efectos desfavorables de las técnicas de reproducción asistida

### **SEGUNDO BLOQUE:**

TRANSGÉNESIS, CÉLULAS MADRE Y CLONACIÓN. (4 horas) Dia 6/5Células madre y Clonación: (2horas =1 día) Dr. Thomas Shimmang Definición; totipotencia y pluripotencia. Células madre embrionarias, fetales y adultas. Células madre hematopoyéticas como modelo clásico. Establecimiento de líneas celulares a partir de células madre embrionarias. Mantenimiento y diferenciación de células madre in vitro. Transferencia nuclear. Clonación animal. Aplicaciones terapéuticas de la clonación. Problemas éticos de la clonación. Tema del seminario: Producción de células germinales a partir de células madre. Uso de los animales transgénicos en clonación terapéutica. Dia 7/5: Transgénesis (2 horas= 1 día) Dra. M T. Alonso Perspectiva histórica. Producción de animales transgénicos. Generación de ratones "knockout". Inactivación génica condicional. Tema del seminario: Ejemplo de un " knockout" condicional específico de tejido.

### **TERCER BLOQUE:**

TERAPIAS EN CURSO. (6 horas) Dia10/5: Transplante de médula (2 horas = 1 día) Dras. M. J. Peñarrubia y M<sup>a</sup> Eugenia Fernández Santos. Evolución histórica. Bases del transplante: Hematopoyesis y características de las células hematopoyéticas. Modalidades del transplante. Fases del transplante. Complicaciones: Enfermedad de injerto contra huésped. Tema de debate: Ingeniería genética en el transplante. Día 11/5: Regeneración cardiaca (2 horas= 1 día) Dra. Ana Sánchez El corazón, estructura básica. Desarrollo embrionario cardiaco. Renovación cardiaca. El infarto y la remodelación cardiaca. Estrategias para favorecer la regeneración post-infarto: Mioblastos, Progenitores hematopoyéticos, Factores de crecimiento. Tema de debate: Transdiferenciación versus fusión. Día 12/5: Ingeniería Tisular: Homo implantes cutáneos (2 horas = 1 día). Drs. Alvaro Meana y Sara Llames, del Hospital general de Asturias. Regeneración cutánea. Métodos de cultivo y aplicaciones.

### **TRABAJO INDIVIDUAL CON LOS ALUMNOS**

Presentaciones de los alumnos: El curso se completa con la presentación por parte de cada alumno matriculado de un tema de debate que elegirá a propuesta de los profesores. Por lo tanto, cada profesor deberá elegir un tema, un pdf que se puede ya guardar en la siguiente carpeta: Toda la red-ibgm-reticulo-ibgm-tercel. Además, supervisar la presentación del alumno y moderar y/o animar el debate que se suscite. Las presentaciones de los alumnos se realizarán después de que termine el curso y tendrán una duración de 10 minutos. Propuestas de mejora del desarrollo del curso: 1-Entregar a cada alumno antes de la sesión una copia de la presentación con 4 imágenes por folio y espacio para notas. 2-Seleccionar 5 diapositivas de la presentación que se envían a la misma carpeta que el pdf con el nombre del profesor. Todo este material se copiará en un CD para cada alumno al finalizar el curso. 3-Distribuir el tiempo en lo posible de la manera siguiente: Cuerpo de la presentación: 50 min, seguido de 15 de descanso. El resto puede dedicarse a : Detalles, presentación somera del pdf y debate. Para agilizar este último, se solicita la presencia del mayor nº de profesores posible. Se dispondrá de cañón y portátil puntero láser y mando a distancia.

#### EVALUACIÓN:

Las evaluaciones se realizaran en el aula de Bioquímica, de 15,30 a 16.30, en los señalados y con la asistencia de todos los alumnos y al menos los dos profesores cuyo artículo se comente ese día. Todos los alumnos podrán presentar el/los artículo/s que han seleccionado mediante una presentación "power point" o con transparencias. Los profesores presentes les podrán formular preguntas acerca del mismo. También es de lectura obligada el Cap.22 del Alberts, por lo que se podrán también preguntar los conceptos básicos del mismo.

#### BIBLIOGRAFIA

- Isolation and Expansion of Adult Cardiac Stem Cells From Human and Murine Heart. (Circ Res. 2004;95:911-921.)
- Inducible Gene Targeting in Postnatal Myocardium by Cardiac-Specific Expression of a Hormone-Activated Cre Fusion Protein. (Circ Res. 2001;88: 587-592.)
- Pten dependence distinguishes haematopoietic stem cells from leukaemia-initiating cells. Nature Vol 441|25 May2006|
- Oocyte morphology predicts outcome of intracytoplasmic sperm injection. Human Reproduction vol.12 no.6 pp.1267-1270, 1997
- Immunobiology of Human Mesenchymal Stem Cells and Future Use in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Biology of Blood and Marrow Transplantation 11:321-334 (2005) American Society for Blood and Marrow Transplantation
- Pluripotency of spermatogonial stem cells from adult mouse testis. Nature Vol 440|27 April 2006
- Spontaneous conceptions and live birth after heterotopic ovarian transplantation: is there a germline stem cell connection Human Reproduction Vol.21, No.6 pp. 1345-1348, 2006

#### DATOS ADICIONALES:

Al terminar el curso se realiza una encuesta para explorar el logro de los objetivos, solapamiento con otras materias y grado de satisfacción de los estudiantes. En los últimos años los estudiantes del curso tuvieron la posibilidad de asistir al simposio internacional de Regeneración cardíaca que tuvo lugar en Valladolid y en el que participaron especialistas clínicos y básicos de todo el mundo. También quiero señalar que cada año se realizó una sesión especial de fin de curso con la presencia de un especialista clínico con algún proyecto clínico de terapia celular en marcha. Los alumnos que lo desearon pudieron asistir a la cena con el profesor invitado para establecer contactos con otros centros de medicina regenerativa del país.

Profesores:

Dra. M. Teresa Alonso Alonso

Dra. Josefa Blanco Rodríguez

Dr. José María Fidel Fernández Gómez

Dra. Ana Sánchez García

Dr. Thomas Schimmang

## **ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE PROTEÍNAS**

**Créditos: 3**

TIPO DE CURSO: Teórico o fundamental

a. Objetivos específicos:

Desde un punto de vista conceptual, se pretende que el alumno conozca los fundamentos de la estructura de las proteínas y la estrecha relación de dicha estructura con las funciones que llevan a cabo. En el campo de las destrezas y habilidades, se pretende que el alumno se familiarice con la investigación en el campo de la estructura y función de las proteínas y sea capaz de fabricar modelos de estructuras de proteínas a partir de secuencias y de construir modelos de interacción de proteína-ligando.

b. Contenidos:

Estructura y función de las lectinas Modelado de proteínas Unión de proteínas a ligandos Estructura y función de proteínas fibrosas Anticuerpos monoclonales e inmunotoxinas.

c. Metodología:

El curso se basa en la lectura y discusión entre alumnos y profesores de artículos científicos en los que se estudia la estructura de proteínas y la relación de dicha estructura con la función que llevan a cabo. Además durante el curso los alumnos manejan bancos de datos de estructura de proteínas y utilizan programas con los que modelan proteínas, construyen oligómeros y unen proteínas a ligandos.

d. Criterios de evaluación

La evaluación se basa en el trabajo realizado por el alumno, valorando el grado de comprensión y profundización en los temas propuestos en el curso.

e. Bibliografía

- Guex N, Diemand A and Peitsch MC (1999) Protein modelling for all. *TiBS* 24:364-367.
- Guex, N. and Peitsch, M.C. (1997) SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: An environment for comparative protein modeling. *Electrophoresis* 18, 2714-2723.
- Schneidman-Duhovny D, Inbar Y, Nussinov R, Wolfson HJ. (2005) PatchDock and SymmDock: servers for rigid and symmetric docking *Nucleic Acids Res.* 33(Web Server issue):W363-7
- Pascal JM, Day PJ, Monzingo AF, Ernst SR, Robertus JD, Iglesias R, Perez Y, Ferreras JM, Citores L, Girbes T. (2001) 2.8-Å crystal structure of a nontoxic type-II ribosome-inactivating protein, ebulin I. *Proteins.* 43(3):319-26.
- Production of monoclonal antibodies by the ascites method in laboratory animals. Hendriksen CFM and de Leeuw W. *Res Immunol* 1998; 149: 535-42. Monoclonal antibody therapy.
- O'Mahony D, Bishop MR. *Front Biosci* 2006; 1: 1620-35. Drug-conjugated monoclonal antibodies for the treatment of cancer.
- Lambert JM. 2005; 5: 543-9.

f. Garantía de Calidad.

Cada año los profesores realizan una autoevaluación del desarrollo del curso recogiendo previamente la opinión de los estudiantes realizando una serie de encuestas de forma paralela con la evaluación del curso.



Profesores:

Dra. M. Teresa Agapito Serrano

Dr. Francisco Javier Arias Vallejo

Dr. José Miguel Ferreras Rodríguez

Dra. M. del Rosario Iglesias Alvarez

Dra. M. Concepción Martín Mateo

Dra. Raquel Muñoz Martínez

## **BIOTECNOLOGÍA APLICADA**

**Créditos: 3**

TIPO DE CURSO: Práctico o metodológico

a. Objetivos específicos:

Desde un punto de vista conceptual, se pretende que el alumno conozca algunas de las principales técnicas instrumentales que se utilizan en los laboratorios de biotecnología. En el campo de las destrezas y habilidades, se pretende que el alumno sea capaz de realizar tareas habituales en los laboratorios de biotecnología como son la extracción de proteínas de tejidos, la centrifugación, la cromatografía en columna, la diálisis, la liofilización, la determinación de la concentración de proteína en una muestra, la electroforesis en geles de poliacrilamida y el ELISA.

b. Contenidos:

Extracción de proteínas de tejidos Centrifugación Cromatografía de intercambio iónico Cromatografía de exclusión molecular Diálisis Liofilización Electroforesis en geles de poliacrilamida Determinación de la concentración de proteínas ELISA

c. Metodología:

En el curso los alumnos, tutelados por los profesores, extraen proteínas de un tejido y las aíslan utilizando diversas técnicas de cromatografía. Siguen el proceso mediante electroforesis en geles de poliacrilamida y técnicas para determinar la actividad de las proteínas aisladas. Además para llevar a cabo el aislamiento de proteínas tienen que utilizar otras técnicas como son la centrifugación, la diálisis, la liofilización, la determinación de la concentración de proteína en una muestra y el ELISA.

d. Criterios de evaluación

La evaluación se basa en el trabajo realizado por el alumno en el laboratorio, valorando el grado de comprensión de las técnicas utilizadas en el curso.

e. Bibliografía

- Scopes R.K. (1994) Protein Purification, Principles and Practice. Springer. Girbés, T., Citores, L., Iglesias, R., Ferreras, J.M., Muñoz, R., Rojo, M.A., Arias, F.J., García, Méndez, E. and Calonge, M. (1993) Ebulin I, a non-toxic novel type 2 ribosome-inactivating protein from Sambucus ebulus L. leaves. Journal of Biological Chemistry 268: 18195-18199.
- Girbés, T., Citores, L., Ferreras, J.M., Rojo, M.A., Iglesias, R., Muñoz, R., Arias, F.J., Calonge, M., García, J.R. and Méndez, E. (1993) Isolation and partial characterization of nigrin b, a non-toxic novel type 2 ribosome-inactivating protein from the bark of Sambucus nigra L. Plant Molecular Biology 22: 1181-1186.

f. Garantía de Calidad.

Cada año los profesores realizan una autoevaluación del desarrollo del curso recogiendo previamente la opinión de los estudiantes realizando una serie de encuestas de forma paralela con la evaluación del curso.

Profesores:

Dr. Francisco Javier Arias Vallejo

Dra. Lucía Citores González  
Dr. José Miguel Ferreras Rodríguez  
Dra. M. del Rosario Iglesias Alvarez

# **ELECTROFORESIS DE PROTEÍNAS Y WESTERN-BLOT. ELECTROFORESIS BIDIMENSIONAL. INICIO A LA PROTEOMICA**

**Créditos: 3**

TIPO DE CURSO: Práctico o metodológico

En este curso se pretende que el alumno conozca el potencial que tiene la proteómica para comprender mejor como funcionan los sistemas biológicos complejos. Además, se pretende que el alumno conozca la estrategia clásica a seguir en proteómica, que consiste en separar y cuantificar las proteínas de una muestra por electroforesis bidimensional o cromatografía multidimensional, y posteriormente identificar cada una de las proteínas mediante espectrometría de masas. Un objetivo importante será que el alumno adquiera los conocimientos acerca de los fundamentos de las técnicas usadas como herramienta en la proteómica, especialmente la de la electroforesis de proteínas e inmunodetección (western-blot). En cuanto a la parte práctica, el alumno llevará a cabo los siguientes pasos:

- 1.-Lisis con detergentes de células tratadas con diferentes estímulos, obtención de extractos celulares.
- 2.-Cuantificación de la proteína total mediante métodos colorimétricos.
- 3.-Preparación de geles de electroforesis SDS-PAGE. Carga de los extractos en los geles. Desarrollo de la electroforesis.
- 4.-Tinción de las proteínas en el gel por Coomassie o Plata.
- 5.-Transferencia de las proteínas del gel a membrana de nitrocelulosa (electrotransferencia) y posterior inmunodetección con anticuerpos específicos.
- 6.-Análisis de los resultados obtenidos.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Creighton T.E. Proteins. Structures and molecular properties. W.H. Freeman and Co. New York. 1993.
- Fersht A. Structure and mechanism in protein science: A guide to enzyme catalysis and protein folding. W.H.Freeman. 1998.
- Lieber D.C. Introduction to proteomics. Tools for the new biology. Humana Press Inc.2002.
- Simpson R.J. Proteins and proteomics. A laboratory manual.Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2003.
- Walker J.M. The protein protocols handbook. 2nd ed.Humana Press Inc. 2002.

## **EVALUACIÓN**

Se realizará una evaluación continua del aprendizaje de los alumnos y se valorará su interés y la participación activa en las discusiones que se desarrollen durante el curso.

Profesores:

Dra. Nieves Fernández García  
Dra. M. Carmen García Rodríguez  
Dr. Mariano Sánchez-Crespo

## **AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE CÉLULAS MONONUCLEADAS HEMATOPOYÉTICAS Y SU DIFERENCIACIÓN A MIOCITOS**

**Créditos: 3**

TIPO DE CURSO: Práctico o metodológico

El curso consta de los siguientes pasos:

1. Separación de la fracción mononucleada a partir de una muestra de sangre de cordón obtenida mediante consentimiento informado.
2. Separación de la fracción estromal por sedimentación y adherencia al fondo de la placa.
3. Separación de las células CD 34+ por depleción inmunomagnética.
4. Cocultivo en presencia de cardiomiocitos.
5. Análisis de marcadores de diferenciación cardíacos

Profesores:

Dra. Josefa Blanco Rodríguez

Dr. Jose María Fidel Fernández Gómez

Dr. Francisco Javier García-Sancho

Dra. Ana Sánchez García

## **SECUENCIACIÓN AUTOMÁTICA DE ADN. ANÁLISIS DE FRAGMENTOS Y MÉTODOS PARA DETECCIÓN DE MUTACIONES**

**Créditos: 3**

TIPO DE CURSO: Práctico o metodológico

Descripción del curso:

En este curso el alumno realizará el proceso completo, con todas sus etapas, de secuenciación de un fragmento de ADN. Este curso tiene un claro enfoque dirigido a la Genética Molecular Humana, por lo que los fragmentos ensayados contendrán mutaciones en genes conocidos responsables de enfermedades hereditarias. Por otra parte, el alumnado se familiarizará con el manejo y mantenimiento básicos de los secuenciadores automáticos capilares. Se realizarán electroforesis de las reacciones de secuencia hechas, que posteriormente se analizarán con los paquetes informáticos disponibles de análisis de secuencia. Finalmente se determinará la mutación presente en cada uno de los fragmentos, su efecto en la proteína y se discutirá su posible implicación en la enfermedad hereditaria en cuestión. Asimismo se realizará una introducción, con ejemplos prácticos, del análisis de fragmentos de ADN marcados fluorescentemente en secuenciadores automáticos y su aplicación para la detección de SNPs (SNAPSHOT), análisis de microsatélites, y técnicas de análisis mutacional (Heteroduplex Analysis).

Profesores:

Dra. M. Jesús Alonso Ramos  
Dra. Mercedes Durán Domínguez  
Dra. Isabel Fernández Carvajal  
Dra. Cristina Miner Pino  
Dr. Juan José Tellería Orriols  
Dr. Eladio Velasco Sampedro

## **MEDIDA DE CORRIENTES IÓNICAS CON LA TÉCNICA DE PATCH-CLAMP**

**Créditos: 3**

TIPO DE CURSO: Práctico o metodológico

a. Objetivos específicos:

Desde un punto de vista conceptual, se pretende que el alumno conozca los fundamentos de la técnica de patch-clamp, sus aplicaciones y sus distintas modalidades de utilización y que aprenda a valorar e interpretar los resultados obtenibles.

En el campo de las destrezas y habilidades, se persigue que el alumno se familiarice con el uso de los aparatos de registro, así como con el análisis y la interpretación de los registros. El alumno ha de preparar soluciones, fabricar electrodos y llevar a cabo registros en la modalidad de whole-cell y/o single channel en una preparación modelo.

Finalmente, en el campo de los contenidos transversales, el alumno participa de forma activa en la planificación, el diseño y la ejecución de los experimentos encaminados a resolver un problema concreto que se le plantea. Asimismo, ha de analizar, interpretar y presentar los resultados obtenidos. Este apartado constituye también un ejercicio de autoevaluación para el alumno.

b. Contenidos:

Introducción y principios de la técnica del patch-clamp: procedimientos y técnicas, componentes electrónicos del equipo, fabricación de los electrodos de registro, configuración y procedimientos experimentales.

Adquisición de los datos: filtrado, sustracción del leak, determinación de la capacidad y la resistencia, disección de los componentes de las corrientes registradas.

Análisis de los datos: Construcción de curvas corriente voltaje, protocolos de estudio de la cinética de las corrientes, ajustes y determinación de las constantes de tiempo.

Limitaciones y posibles errores: la resistencia en serie y sus consecuencias, errores de fijación de voltaje.

Estudio de canales únicos: configuraciones especiales, protocolos y métodos de análisis, construcción de histogramas para el cálculo de la probabilidad de apertura y la amplitud de las corrientes.

c. Metodología:

El curso consta de tres grupos de actividades claramente diferenciadas:

Unas sesiones teóricas, en las que se explican los conceptos básicos y los fundamentos técnicos y de los sistemas de análisis. Estas sesiones se imparten a un grupo reducido de alumnos (máximo de 4) y tienen un diseño interactivo, que favorece la participación del alumno.

Unas sesiones prácticas, en las que los alumnos se organizan en parejas.

Tras presentar los distintos instrumentos y hacer que los alumnos se familiaricen con su manejo, cada grupo ha de diseñar, preparar y llevar a cabo un experimento. El procedimiento más habitual es la transfección de un canal iónico en un sistema de expresión heterólogo (como las

células HEK). Se les proporcionan a los alumnos estas células para que procedan al estudio y la caracterización cinética de los canales. Los alumnos han de diseñar y preparar las soluciones de registro, fabricar los electrodos, diseñar los protocolos de adquisición de corrientes, llevar a cabo los experimentos y almacenar los resultados.

Unas sesiones de análisis y evaluación, en las que los alumnos han de ser capaces de presentar, interpretar y discutir los resultados obtenidos manejando el programa de análisis. Estas sesiones se llevan a cabo individualmente y los resultados obtenidos se exponen y discuten en el grupo de alumnos y se confrontan con los datos disponibles en la literatura.

#### d. Criterios de evaluación

Los alumnos están durante todo el curso acompañados por uno de los profesores responsables, que se encarga de impartir los contenidos teóricos en la primera parte del curso, y que en el resto de las actividades actúa como observador y facilitador de la tarea a realizar por los alumnos. Esto permite al profesor formarse una idea muy precisa del grado de adquisición de conocimientos teóricos, así como de las habilidades prácticas de los alumnos a la hora de manejar las muestras, los aparatos y el programa de análisis. La evaluación que de esta forma hace el profesor se confronta con el ejercicio de evaluación que supone la realización de un experimento por parte del alumno. Este experimento es además idóneo como ejercicio de autoevaluación ya que el objetivo que se persigue es que sea capaz de evaluar críticamente los resultados obtenidos para detectar fallos metodológicos, de ejecución, de análisis o conceptuales. Puesto que ellos mismos han de ejecutar todo el proceso, obtienen también una información muy precisa con respecto al grado de comprensión y manejo de la técnica que han alcanzado y por tanto el grado de consecución de los objetivos del curso. Todos estos aspectos referentes a la adquisición de conocimientos, destrezas y habilidades, así como la capacidad de análisis e integración de los resultados son evaluados por el profesor y el alumno para obtener la evaluación del proceso de aprendizaje del alumno.

#### e. Bibliografía

- Hille B. Ion channels of excitable membranes (3rd ed) Sinauer. 2001
- Boulton A, Baker GB, Walz W. Patch-clamp applications and protocols. Neuromethods series. Humana Press, 1995.
- Thomas P, Smart TG. HEK293 cell line: a vehicle for the expression of recombinant proteins. J Pharmacol Toxicol Methods. 51(3):187-200, 2005
- The Axon guide for electrophysiology and biophysics laboratory techniques (R. Sherman-Gold ed) Axon Instruments Inc, 1993
- Gurney AM Electrophysiological recording methods used in vascular biology. J Pharmacol Toxicol Methods 44(2):409-20, 2000.
- Sakmann B and Neher E. Single-channel recording (2nd ed) Plenum Press, 1995
- Rudy B. and Iverson L. Ion Channels. Methods in Enzymology 207, 1992

### 3. Garantía de calidad

La evaluación de calidad del curso se realiza típicamente en dos fases. En una primera fase, la realización de una encuesta a los alumnos matriculados en el curso al finalizar el mismo permite obtener información respecto al grado de consecución de los objetivos, detectando los puntos fuertes y débiles en el diseño del curso y en relación con los contenidos, la metodología y la planificación del mismo. En una segunda fase, se lleva a cabo una segunda encuesta a los alumnos que han realizado el curso al cabo de 3-4 años, cuando todos ellos están en los estadios finales de la elaboración y defensa de su trabajo de tesis doctoral. Esta segunda encuesta proporciona información sobre la utilidad y aplicabilidad concreta de los conocimientos y destrezas obtenidos en el curso, siendo por tanto un medidor más fiable de la pertinencia del curso en términos generales. Los resultados obtenidos en estos dos tipos de encuesta se evalúan



por los profesores del curso para decidir que aspectos conceptuales, metodológicos y prácticos es necesario modificar.

Profesores:

Dr. José Ramón López López

Dra. M. Teresa Pérez García

## **PCR CUANTITATIVA A TIEMPO REAL CON SONDAS TAQMAN Y COLORANTES INTERCALANTES**

**Créditos: 3**

TIPO DE CURSO: Práctico o metodológico

a. Objetivos específicos:

Desde un punto de vista conceptual, se pretende que el alumno conozca los fundamentos de la técnica, sus aplicaciones, las distintas modalidades de utilización y aprenda a valorar e interpretar los resultados obtenibles. En el campo de las destrezas y habilidades, se persigue que el alumno se familiarice con el uso del aparato, presentándole más de un modelo de termociclador y de sistema de análisis. El alumno ha de planificar, preparar y llevar a cabo una cuantificación utilizando uno de los modelos disponibles. Finalmente, en el campo de los contenidos transversales, el alumno ha de ser capaz de analizar e interpretar los resultados obtenidos, familiarizándose con el programa de análisis, para referirlos a una curva patrón y valorar desde su propia experiencia los aspectos técnicos y conceptuales más complejos de la técnica. Este apartado constituye también un ejercicio de autoevaluación para el alumno

b. Contenidos:

Introducción a la PCR a tiempo real: Consideraciones básicas, ventajas, instrumentación, química Estrategias de cuantificación más comunes y sus fundamentos El método de cuantificación: Relativo frente a absoluto Conceptos básicos para el análisis de los resultados: Eficiencia de las reacciones, curvas patrones, genes reporteros.. Aplicaciones y limitaciones de la técnica Ejemplos prácticos: estudio de su diseño, su ejecución y su interpretación Sistemas de PCR a tiempo real, instrumentos y programas de análisis.

c. Metodología:

El curso consta de tres grupos de actividades claramente diferenciadas:

- Unas sesiones teóricas, en las que se explican los conceptos básicos y los fundamentos técnicos y de los sistemas de análisis. Estas sesiones se imparten a un grupo reducido de alumnos (máximo de 6) y tienen un diseño interactivo, que favorece la participación del alumno.

- Unas sesiones prácticas, en las que los alumnos se organizan en parejas.

Tras presentar los distintos instrumentos y hacer que los alumnos se familiaricen con su manejo, cada grupo ha de diseñar, preparar y llevar a cabo un experimento de cuantificación a tiempo real con algún gen que se le proporciona. El diseño de los experimentos incluye controles positivos y negativos, calibradores y diluciones seriadas de las muestras para certificar la validez del experimento y poder detectar posibles fallos en su diseño o ejecución.

-Unas sesiones de análisis y evaluación, en las que los alumnos han de ser capaces de presentar, interpretar y discutir los resultados obtenidos manejando el programa de análisis. Estas sesiones se llevan a cabo de nuevo en los grupos de 6 alumnos

d. Criterios de evaluación

Los alumnos están durante todo el curso acompañados por uno de los profesores responsables, que se encarga de impartir los contenidos teóricos en la primera parte del curso, y que en el resto de las actividades actúa como observador y facilitador de la tarea a realizar por los alumnos. Esto permite al profesor formarse una idea muy precisa del grado de adquisición de conocimientos teóricos, así como de las habilidades prácticas de los alumnos a la hora de manejar las muestras, los aparatos y el programa de análisis. La evaluación que de esta forma hace el profesor se confronta con el ejercicio de evaluación que supone la realización de un

experimento por parte del alumno. Este experimento es además idóneo como ejercicio de autoevaluación ya que el objetivo que se persigue es que sea capaz de evaluar críticamente los resultados obtenidos para detectar fallos metodológicos, de ejecución, de análisis o conceptuales. Puesto que ellos mismos han de ejecutar todo el proceso, obtienen una información muy precisa con respecto al grado de comprensión de la técnica que han alcanzado y por tanto el grado de consecución de los objetivos del curso.

#### e. Bibliografía

- PCR Primer, a laboratory manual. (Carl W. Dieffenbach and Gabriela S. Dveksler, eds.) CSHL press (2nd ed.) 2003.
- Valasek MA, Repa JJ. The power of real-time PCR. *Adv. Physiol. Ed.* 29: 151-159, 2005
- Wong ML, Medrano JF. Real-time PCR for mRNA quantitation. *Biotechniques.* Jul;39(1):75-85. 2005.
- Bustin SA. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *J Mol Endocrinol* 25(2):169-93. 2000.
- Bustin SA. Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems. *J Mol Endocrinol.* 29(1):23-39. 2002.
- Bustin SA, Nolan T. Pitfalls of quantitative real-time reverse-transcription polymerase chain reaction. *J Biomol Tech.*15(3):155-66. 2004.
- Huggett J, Dheda K, Bustin S, Zumla A. Real-time RT-PCR normalisation; strategies and considerations. *Genes Immun.* 6(4):279-84. 2005.
- Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res.* 29(9):2002-2007., 2001
- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta Ct$  method. *Methods* 25, 402-408, 2001.

### 3. Garantía de calidad

La evaluación de calidad del curso se realiza típicamente en dos fases. En una primera fase, la realización de una encuesta a los alumnos que han realizado el curso al finalizar el mismo permite obtener información respecto al grado de consecución de los objetivos, detectando los puntos fuertes y débiles en el diseño del curso y en relación con los contenidos, la metodología y la planificación del mismo.

En una segunda fase, se realiza una segunda encuesta a los alumnos que han realizado el curso al cabo de 3-4 años, cuando todos ellos están en los estadios finales de la elaboración y defensa de su trabajo de tesis doctoral. Esta segunda encuesta proporciona información sobre la utilidad y aplicabilidad concreta de los conocimientos y destrezas obtenidos en el curso, siendo por tanto un medidor más fiable de la pertinencia del curso en términos generales.

Los resultados obtenidos en estos dos tipos de encuesta se evalúan por los profesores del curso para decidir que aspectos conceptuales, metodológicos y prácticos es necesario modificar.

Profesores:

Dra. M. Teresa Pérez García

Dr. Eduardo Miguel Velado

Dra. Pilar Ciudad

## **INMUNOHISTOQUÍMICA E INMUNOCITOQUÍMICA MÚLTIPLE. INMUNOBLOTTING. CAPTURA Y PROCESAMIENTO DE IMÁGENES DIGITALES**

**Créditos: 3**

TIPO DE CURSO: Práctico o metodológico

Descripción:

Con este curso se pretende transmitir a los alumnos que el análisis de la expresión de distintas proteínas en uno o más tipos celulares puede ser estudiado con distintas metodologías, asimismo se pretende, en el campo de las destrezas y habilidades, proporcionarles el entrenamiento básico en las mismas. Los objetivos específicos del curso son:

1. Conocer los procesos básicos de transcripción y traducción celular así como las características de la reacción antígeno-anticuerpo.
2. Conocer y realizar un protocolo de fijación de tejidos en animal de laboratorio entero.
3. Realizar cortes de diferentes tejidos de rata mediante criostato.
4. Diseñar y saber aplicar protocolos de disociación de tejidos y cultivo de las células obtenidas.
5. Diseñar y aplicar protocolos de Inmunohistoquímica/inmunocitoquímica de fluorescencia doble (para dos antígenos) para localizar e identificar simultáneamente dos proteínas, en cortes de tejido y en células disociadas.
6. Conocer y manejar el microscopio de fluorescencia y ser capaz de identificar las proteínas marcadas con inmunofluorescencia.
7. Adquirir imágenes digitalizadas de las inmunocitoquímicas realizadas en cortes de tejidos y en células disociadas, y procesar dichas imágenes (medidas de tamaño de las células, diámetro, superficie, medidas de intensidad de la fluorescencia, etc).
8. Conocer los principios de la inmunoprecipitación y saber aplicar protocolos básicos de inmunoprecipitación eligiendo anticuerpos adecuados, mono y policlonales.
9. Conocer los principios básicos de la separación electroforética de proteínas, de la electrotransferencia semi-seca y húmeda y de la inmunodetección.
10. Conocer los métodos y saber aplicar las estrategias adecuadas en la preparación de diferentes muestras para la realización de immunoblottings.
11. Diseñar y aplicar correctamente diferentes protocolos de electroforesis en geles de SDS-poliacrilamida, de transferencia a membranas de PVDF y de detección de antígenos.
12. Aplicar diferentes métodos para visualizar las proteínas en los geles y en los blottings, saber densitometrar las bandas de interés y cuantificarlas. .

Contenidos:

1. Procesos básicos de transcripción y traducción celular. Características de la reacción antígeno-anticuerpo.
2. Fijación de tejidos en animal entero.
3. Manejo del criostato. Realización de cortes de tejido.
4. Técnicas de disociación de tejidos.
5. Técnicas de Inmunohistoquímica/inmunocitoquímica de doble marcaje con fluorescencia.
6. Adquisición y procesamiento de imágenes digitales de microscopía de fluorescencia.
7. Inmunoprecipitación: protocolos, elección de anticuerpos, preparación de muestras, purificación de inmunocomplejos.
8. Preparación de muestras para electroforesis: métodos de lisis, buffers de lisis, detergentes, inhibidores de proteasas, etc.
9. Electroforesis en geles de poliacrilamida-SDS. Electrotransferencia húmeda y semi-seca de proteínas a diferentes membranas. Marcaje de proteínas mediante incubación con anticuerpos primarios y secundarios conjugados.

10. Técnicas de visualización de proteínas totales en geles: tinción de plata, azul de Coomasie, etc. Técnicas de visualización de antígenos en los blottings: quimioluminiscencia. Densitometría y cuantificación relativa.
11. Interpretación de resultados.

La metodología de enseñanza-aprendizaje Dada la naturaleza práctica de este curso, la metodología empleada se basará fundamentalmente en diseñar protocolos adecuados y en su ejecución por parte de cada alumno para analizar las proteínas seleccionadas presentes en cortes, células u homogenizados procedentes de tejidos de rata, con objeto de que el alumno adquiera las habilidades en las diferentes técnicas de que consta el curso.

Los principios teóricos en los que se fundamenta la metodología serán presentados de forma breve al inicio de cada una de las sesiones (10 sesiones de 2-3 horas) y al mismo tiempo se proporcionará a los alumnos los protocolos específicos a seguir así como la bibliografía adecuada para ampliar los conocimientos teóricos. Al inicio de cada técnica el profesor además hará una breve demostración del protocolo y del material específico a utilizar y a continuación cada alumno ejecutará el protocolo correspondiente bajo la supervisión directa y continua del profesor. Al finalizar cada uno de las diferentes técnicas utilizadas se hará el análisis y exposición de los resultados obtenidos por el alumno .

Los criterios de evaluación Al ser un curso práctico que se desarrolla en el laboratorio, los alumnos están acompañados y supervisados constantemente por los profesores responsables durante todas las sesiones, facilitando puntualmente la tarea cuando el alumno lo requiera. Este contacto directo y continuo con el alumno permite obtener una idea muy precisa del grado de adquisición de conocimientos, destrezas y habilidades por parte de cada alumno a la hora de manejar los tejidos, anticuerpos, distintos equipos etc. Además forma parte de la evaluación la presentación por parte del alumno de los resultados experimentales obtenidos, su análisis e interpretación. El grado de adquisición de los objetivos experimentales del curso por cada alumno, además de serle útil al profesor para la evaluación, lo es para el propio alumno como auto-evaluación, ya que él mismo puede ver y evaluar los resultados obtenidos y detectar posibles fallos metodológicos, de ejecución o de análisis.

#### Bibliografía básica:

- Using Antibodies: A laboratory manual. E. Harlow & D. Lane. Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY, 1999.
- Basic Methods in Molecular Biology. L. Davis, M. Kuehl & J. Battey. Ed. Appleton & Lange, 2ª edición, CN, 1994.
- Molecular Cloning: A laboratory manual. J. Sambrook, E.F. Frits & T. Maniatis. Ed. Cold spring Harbor Laboratory Press, 2ª edición, NY, 1989.
- Immunocytochemical Techniques: Principles and Practice. B. Beltz & G.D. Burd. Ed. Blackwell Scientific Publications, NY, 1989.
- Electroforesis. Boletines de publicación periódica de Bio-Rad y Amersham.

#### Garantía de calidad.

Se describirán los mecanismos, procedimientos de seguimiento y mejora que analicen el desarrollo y resultados de los cursos del programa de doctorado y que aseguren que la opinión de estudiantes así como la de los doctores egresados se toma en consideración al definir e implantar acciones de mejora. La evaluación de la calidad del curso se realiza en dos momentos diferentes:

1. Al finalizar el curso se les hace una encuesta a los alumnos participantes, lo que permite obtener información inmediata en relación al grado de consecución de los objetivos, así como detectar los puntos fuertes y débiles en el diseño del curso, en los contenidos, metodología y planificación.

2. Posteriormente se realiza otra encuesta a los alumnos que van a exponer y defender su tesis doctoral y que realizaron este curso práctico 3-4 años atrás. Esta segunda encuesta proporciona información sobre la utilidad y aplicación concreta de los conocimientos, destrezas y habilidades obtenidas en el curso en su trabajo para la realización de la tesis doctoral, siendo esto un medidor fiable de la pertinencia del curso. Los resultados de estas dos encuestas son evaluados por los profesores que imparten el curso decidiendo qué aspectos conceptuales o metodológicos deben ser cambiados.

Profesores:

Dra. Ana María de la Luz Obeso Cáceres

Dra. M. Asunción Rocher Martín

## **MEDIDAS DINAMICAS DE CALCIO EN CITOSOL Y ORGANELAS SUBCELULARES CON AEQUORINA DIRIGIDA O COLORANTES FLUORESCENTES**

**Créditos: 3**

TIPO DE CURSO: Práctico o metodológico

Objetivos y Metodología:

Se trata de un curso práctico metodológico, en el que se realizan medidas dinámicas de calcio libre en citosol, mitocondria y retículo endoplásmico utilizando colorantes fluorescentes (fura-2), aequorinas dirigidas específicamente a mitocondria y retículo endoplásmico y la proteína fluorescente sensible a calcio pericam dirigida a la mitocondria, de acuerdo con la siguiente metodología:

1.-Medidas de concentración de  $Ca^{2+}$  en compartimentos intracelulares con aequorinas dirigidas. La técnica comprende el uso de un luminómetro de alta sensibilidad, compuesto de un contador de fotones enfriado (Thorn Emi/Electron Tubes) situado en estrecha proximidad a la cámara de muestra, donde se sitúa el cristal con las células pegadas. La cámara de muestra se mantiene termostatizada a la temperatura deseada y tiene un sistema de perfusión con electroválvulas que permite intercambiar hasta 8 soluciones termostatizadas diferentes durante los experimentos. Los datos de luminiscencia obtenidos se envían a través de un amplificador/discriminador hasta un convertidor analógico-digital que manda los datos hasta el ordenador y permite almacenarlos y hacer los cálculos posteriormente. Una vez que las células expresan alguno de los tipos de aequorinas mencionadas más arriba, se reconstituyen con el cofactor coelenteracina y se introducen en el luminómetro para realizar las medidas de concentración de  $Ca^{2+}$ .

2.-Medida de concentración de  $Ca^{2+}$  citosólico en célula única con colorantes fluorescentes. Se utilizará fura-2 para medir concentración de  $Ca^{2+}$  citosólico. Las medidas se realizarán excitando las células sucesivamente con luz de 340 nm y 380 nm, gracias a un monocromador Cairn. Utilizando un dicroico y un filtro de emisión específicos se pueden obtener imágenes de fluorescencia de fura-2 a 340 nm y 380 nm que se utilizan para medir la concentración de  $Ca^{2+}$  citosólico de forma ratiométrica a partir del cociente entre ambas imágenes. En el sistema de que disponemos se puede realizar toda la secuencia de imágenes una vez por segundo o incluso más rápido.

3.-Medida de concentración de  $Ca^{2+}$  mitocondrial en célula única con pericam ratiométrico dirigido. Los pericam son proteínas fluorescentes derivadas de la GFP que presentan sensibilidad por  $Ca^{2+}$ . Una de las variedades es el llamado pericam ratiométrico, cuyo espectro de excitación varía en presencia de  $Ca^{2+}$  de tal manera que resulta posible hacer medidas ratiométricas de concentración de  $Ca^{2+}$ . Disponemos de este tipo de pericam dirigido a la mitocondria. Las medidas se realizarán excitando sucesivamente las células con luz de 415 y 480 nm, y recogiendo la fluorescencia emitida por encima de 535 nm. Las medidas se realizan con células de cultivo HeLa, que o bien se cargan con fura-2 para los experimentos tipo 2, o bien se transfectan con los constructos de aequorina o pericam dirigidos para los experimentos de tipo 1 y 3. En todos los casos se observa el efecto de la adición de un agonista (histamina), que en estas células produce liberación de calcio del retículo endoplásmico, aumento de calcio en el citosol y en la mitocondria, y genera a continuación un tren de oscilaciones de calcio citosólicas.

El contenido de este curso está directamente relacionado con la línea de trabajo del grupo de investigación del Dr. Javier Alvarez. Los experimentos se realizan con la participación directa de los alumnos, tanto en el manejo de las células y los aparatos como en el uso del software necesario para el análisis de los datos. El curso se desarrolla a lo largo de una semana completa, en la que los alumnos asisten a todo el proceso de siembra, transfección celular y finalmente

medidas de  $[Ca^{2+}]$ . Al tratarse de un curso práctico no se realiza una prueba de evaluación específica, pero es obligatoria la asistencia y la participación activa en las tareas experimentales.

Como bibliografía, se proporcionan los siguientes trabajos que detallan las técnicas que se utilizan en el curso:

- Grynkiewicz G, Poenie M, Tsien RY (1985). A new generation of  $Ca^{2+}$  indicators with greatly improved fluorescence properties. *J Biol Chem* 260: 3440-3450.
- Montero, M., Alonso, M.T., Carnicero, E, Cuchillo, I., Albillos, A., García, A.G., García-Sancho, J. and Alvarez, J. (2000) Chromaffin cells stimulation triggers fast mitochondrial millimolar  $[Ca^{2+}]$  transients that modulate secretion. *Nature Cell Biology* 2, 57-61.
- Alvarez, J. and Montero, M. (2002) Measuring  $[Ca^{2+}]$  in the endoplasmic reticulum with aequorin. *Cell Calcium* 32, 251-260.
- Nagai, T., Sawano, A., Park, E.-S. and Miyawaki, A. (2001) Circularly permuted green fluorescent proteins engineered to sense  $Ca^{2+}$ . *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98, 3197-3202

Garantía de calidad.

Al final del curso se proporciona a los estudiantes un cuestionario en el que se les pide que definan los aspectos que más les han interesado y los que menos, así como las sugerencias que tengan de cara a la mejora del curso en años sucesivos. Con las respuestas a ese cuestionario los profesores emiten un informe dirigido a la Comisión de Doctorado en el que exponen sus sugerencias de cara a la mejora del curso.

Profesores:

Dr. Javier Alvarez Martín  
Dra. M. Carmen Domínguez Lobatón  
Dra. Rosalba Inés Fonteriz García  
Dra. M. Teresa Montero Zoccola  
Dr. Alfredo Moreno Díaz-Calderón



## **MEDIDA DE NEUROTRANSMISORES CON HPLC Y TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS.**

**Créditos: 3**

TIPO DE CURSO: Práctico o metodológico

Objetivos y metodología:

En este curso de carácter práctico o metodológico el objetivo general es familiarizar al alumno con la utilización de: A) la cromatografía líquida de alta presión con detección electroquímica (HPLC-EC) para la identificación y cuantificación de neurotransmisores y B) las técnicas voltamétricas para el análisis de la secreción de neurotransmisores. De esta forma el programa del curso se divide en dos grandes bloques temáticos que atienden a estos dos epígrafes generales que tratan de proporcionar el entrenamiento básico en el campo de las destrezas y habilidades. Centraremos el curso en el análisis de catecolaminas y de serotonina, así como de sus metabolitos. El curso (3 créditos) tiene una duración de una semana completa, utilizando aproximadamente 6 h diarias. En las que se explica al alumno una pequeña introducción teórica de los temas a tratar y la metodología que se va a utilizar.

Contenidos

Agrupados por bloques, los contenidos son los siguientes:

A) Identificación y cuantificación de neurotransmisores por HPLC-ED 1) Técnicas de extracción de los neurotransmisores a partir de medios acuosos (plasma, orina,...) y de tejidos y preparación de muestras para su análisis. 2) Utilización de un equipo de HPLC-ED 3) Protocolos para la separación de neurotransmisores (condiciones isocráticas, gradientes, sección de columnas y bufferes, condiciones del detector electroquímico) 4) Análisis de los cromatogramas y presentación de resultados.

B) Utilización de técnicas voltamétricas para el análisis de la secreción de neurotransmisores (catecolaminas y serotonina) 1) Instrumentación para registros voltamétricos y preparación de microelectrodos 2) Técnicas voltamétricas utilizadas: amperometría a potencial constante, voltametría cíclica, cronoamperometría, voltametría de pulso diferencial. 3) Preparaciones "in vivo" e "in vitro" para la aplicación de técnicas voltamétricas?. Preparaciones perfundidas y superfundidas y células empaquetadas. 4) Registros microamperométricos en célula única para el estudio de la actividad secretora (mastocitos, células cromafines y células PC12).

Como bibliografía, se proporcionan los siguientes trabajos que servirán como base teórica y donde se detallan protocolos experimentales utilizados en el curso:

- Raggi MA, Sabbioni C, Casamenti G, Gerra G, Calonghi N, Masotti L. (1999) Determination of catecholamines in human plasma by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 730:201-11.
- Kawagoe KT, Zimmerman J B, and Wightman RM. (1993) Principles of voltammetry and microelectrode surface states. *Journal of neuroscience methods* 48: 225-240
- Mosharov EV and Sulzer D (2005) *Nature methods* 2: 651-658
- Single-Channel recording, second edition, edited by Bert Sakmann and Erwing Neher. Plenum Press. New York, 1995

Evaluación

No se realiza una prueba de evaluación final. La evaluación se realizará teniendo en cuenta la participación activa del alumno durante el curso cuya asistencia es obligatoria y la

adquisición de destrezas y habilidades para realizar los protocolos específicos durante su desarrollo.

Garantía de calidad.

Se solicitará al final del curso que los estudiantes contesten un cuestionario relativo a la marcha del curso para tratar de definir sus fortalezas y debilidades. También será de gran utilidad que los estudiantes propongan sugerencias de mejora. Con toda esta información y las impresiones de los profesores se emitirá un informe que se hará llegar al coordinador del programa de doctorado.

Profesor:

Dr. Andrés Alonso García

Dra. Yolanda Bayón Prieto

Dr. Constancio González Martínez

Dr. Ricardo J. Riguel Bonastre

## **MEDIDA DE PRODUCCIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO Y DEL ESTADO REDOX DE LA CÉLULA.**

**Créditos: 3**

TIPO DE CURSO: Práctico o metodológico

a. Objetivos específicos:

Se pretende que el alumno adquiera conocimiento sobre el estado general redox de las células, cómo este puede ser variado por procedimientos farmacológicos (mediante la utilización de agentes oxidante, reductores, inhibidores de la cadena de transporte electrónico...). Para la evaluación del estado general redox, se adiestrará al alumno, sobre el conocimiento de los diferentes pares redox intracelulares que contribuyen a mantenerlo. Se hará una referencia especial al par redox Glutation reducido (GSH) Glutation oxidado (GSSG) y se enseñará a la utilizar la ecuación de Nerst, para calcular el potencial redox de cada par, en nuestro caso el EGSH. También se explicará que las células poseen sistemas para eliminar el daño oxidativo producido por las especies reactivas de Oxígeno, primero por los pares redox intracelulares, (siendo el mas importante por su alta concentración de rango mM, el par GSH/GSSG), segundo por las enzimas antirradicalarias intracelulares tales como superoxido dismutasa (SOD), Glutation peroxidasa GPx Catalasa.

b. Contenido:

Aunque este curso es eminentemente práctico, en primer lugar se hará una breve introducción teórica sobre que son las especies reactivas de Oxígeno y que mecanismos poseen las células para eliminarlos. Se hará una introducción teórica sobre el par GSH/GSSG. Examinaremos diferentes métodos de valoración de GSH y GSSG. Explicaremos de forma exhaustiva el método que nosotros vamos a utilizar posteriormente, un método enzimático cíclico. Experimentalmente, utilizando diafragma de rata, en baño de órganos, farmacológicamente induciremos la producción de especies reactivas de oxígeno. En los fragmentos de diafragma, valoraremos el contenido de Glutation total y Glutation oxidado y calcularemos por diferencia el contenido en GSH. Conocidas las concentraciones molares del par GSH/GSSG calcularemos el potencial redox EGSH. Se elaboraran e interpretarán los resultados.

c. Metodología:

El curso consta de tres tipos de actividades diferenciadas. Una introducción de los contenidos generales del curso, extendiéndose especialmente en la metodología práctica que va a ser utilizada posteriormente. Una parte práctica, mediante un protocolo minucioso que será entregado a los alumnos se realizará el ensayo propuesto, en este protocolo se incluirá la descripción de la extracción del tejido a utilizar, el uso del baño de órganos, preparación de soluciones, valoración de Glutation total y Glutation oxidado. Elaboración e interpretación de resultados. Por interpolación en una curva patrón, elaborada por el alumno, hallará la concentración de GSH y GSSG, calculará el potencial redox EGSH y expresará los resultados en forma de gráficos. Realizará una interpretación lógica de los resultados obtenidos.

d. Criterios de evaluación

Un criterio fundamental para la evaluación es el grado de comprensión y profundización científica, sobre el manejo experimental de la metodología empleada. Se valorará además la redacción e interpretación de los resultados, ya que uno de los fines que se persiguen es que los alumnos aprendan a ser críticos en los resultados experimentales obtenidos. Otro de los criterios utilizados para la evaluación es la asistencia y grado de participación en las sesiones teóricas y prácticas.

e. Bibliografía:

- Meister and M. E. Anderson Glutathione Ann. Rev. Biochem 52:711-760 (1983)
- Free Radicals: A practical Approach Ed N.A. Punchard and F.J: Kelly IRL Press-Oxford University Press (1995)
- F.Q. Schafer and G. R. Buettner Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. Free radical Biology & Medicine 30 (11): 1191-1212 (2001)
- Gonzalez C, Sanz-Alfayate G, Agapito MT, Obeso A. Effects of reducing agents on glutathione metabolism and the function of carotid body chemoreceptor cells. Biol Chem. Mar-Apr;385(3-4):265-74 (2004)
- Gómez Niño A., Agapito M.T., Obeso A., González C. Modification of the glutathione Redox Environment and Chemoreceptor Cell Responses Advances in experimental medicine and Biology 580 (The arterial chemoreceptors): 325-330 (2006)
- Gonzalez C, Sanz-alfayate G, Obeso A and Agapito MT. Role of glutathione redox state in oxygen sensing by carotid body chemoreceptor cells. to hyperoxia. Methods in Enzymology. 381: 40-71, (2004).
- Gonzalez, C., Agapito, MT., Rocher, A. and Obeso, A. Biology of reactive oxygen species. Their role in oxygen chemoreception in the carotid body. In.: S. Lahiri, G. Semenza and N. Prabhakar (eds.) Oxygen Sensing: Responses and Adaptations to Hypoxia. Marcel Dekker, Inc, NY (USA) (2003) pp.:489-505.
- Jordan J, Galindo MF, Tornero D, Benavides A, Gonzalez C, Agapito MT, Gonzalez-Garcia C, Ceña V. (2002) Superoxide anions mediate veratridine-induced cytochrome c release and caspase activity in bovine chromaffin cells. Br J Pharmacol. Dec;137(7):993-1000.
- Gonzalez C, Sanz-Alfayate G, Agapito MT, Gómez Niño A, Rocher A, Obeso A. (2002) Significance of ROS in oxigen sensing in cell systems with sensitivity to physiological hipoxia. Respir Physiol Neurobiol. 132(1):17-41

f. Garantía de Calidad.

Cada año al finalizar el curso se reúnen los profesores responsables del mismo para realizar una autoevaluación de su desarrollo. Para ello se recoge previamente la opinión de los estudiantes realizando una serie de encuestas de forma paralela con la evaluación del curso. A partir de esta primera evaluación se genera un informe que debe recoger al menos los siguientes aspectos del programa: Criterios y procedimientos de actualización y mejora del programa del curso en base al perfil formativo que se desea y a los resultados académicos de los estudiantes. Análisis de debilidades y propuestas de mejora. Criterios y procedimientos para garantizar la calidad de las prácticas en el caso de los cursos prácticos Procedimientos de atención de las sugerencias/reclamaciones de los estudiantes y grado de satisfacción de los mismos con el desarrollo del curso.

Profesores:

Dra. M. Teresa Agapito Serrano

Dra. Silvia Pilar López Burillo

Dra. M. Victoria Vega Agapito

## **GENOTIPAJE DE RATONES MODIFICADOS GENÉTICAMENTE**

**Créditos: 3**

TIPO DE CURSO: Práctico o metodológico

El curso consiste en conocer como se genotipan ratones que llevan un transgen exogeno mediante PCR. A partir de biopsias de las colas de raton se prepara ADN genómico. Usando cebadores especificos se amplifica una region que lleva el transgen. Los fragmentos amplificados se corren en un gel de agarosa y se visualizan mediante bromuro de etidio. Tambien se explica el funcionamiento del animalario, el mantenimiento de ratones y el marcaje numerico de los ratones.

Profesores:

Dra. M. Teresa Alonso Alonso

Dr. Thomas Schimmang

## **IMAGEN DE CALCIO Y EXPRESIÓN DE GENES EN CÉLULA ÚNICA**

**Créditos: 3**

TIPO DE CURSO: Práctico o metodológico

Este es un curso práctico en el que se enseña una nueva metodología denominada imagen de bioluminiscencia que permite monitorizar calcio subcelular en células que expresan aequorina recombinante dirigida a cualquier orgánulo subcelular así como monitorizar la dinámica de la expresión de genes en células vivas e individuales.

Esta metodología es muy potente y somos prácticamente el único centro en España con capacidad para este tipo de formación. El curso tiene una duración de una semana completa, utilizando aproximadamente 6 h diarias. En las que se explica al alumno una pequeña introducción teórica de los temas a tratar y la metodología que se va a utilizar. En una primera parte los alumnos deben transfectar células HEK293 con un plásmido que contiene aequorina dirigida a mitocondria. Tras 24 o 48 h, las células son incubadas en presencia de celenterazina y montadas en la platina de un microscopio Zeiss 100S TV dotado de una cámara de photon counting de Hamamatsu. A continuación se inicia un proceso de captura de fotones mediante imagen de bioluminiscencia mientras las células son estimuladas para producir incrementos de calcio mitocondrial. Se llevan a cabo varios experimentos, tras los cuales se enseña a los alumnos el programa de análisis de imágenes Aquacomos que permite convertir las imágenes de bioluminiscencia en registros de calcio subcelular. En la segunda parte, se utilizan líneas celulares que expresan luciferasa bajo el control de un promotor (topoisomerasa II $\alpha$ ) o un triplete de elementos de respuesta a un factor de transcripción (NFAT). Tras ello, las células se sitúan en el interior de un incubador alojado sobre la platina del mismo microscopio y se llevan a cabo medidas de bioluminiscencia durante 24-72 h. Se procede al análisis de las imágenes para determinar la actividad transcripcional del promotor o la actividad del factor de transcripción en cuestión. Se observa que la actividad de topoisomerasa II  $\alpha$  es cíclica y podría tener que ver con el ciclo celular. Se repiten los experimentos pero haciendo simultáneamente captura de imagen de bioluminiscencia y campo brillante para determinar tanto la actividad transcripcional como la división celular. Se hace el análisis y "overlapping" de las imágenes y su cuantificación mediante el procesador de imágenes.

La evaluación del calcio se hace tras la presentación de los alumnos de las imágenes y registros que han capturado así como un informe escrito del significado de los resultados.

Profesores:

Dra. Lucía Nuñez Llorente

Dr. Carlos Villalobos Jorge

### **c) Número de estudiantes matriculados en el curso académico 2007-2008:**

Tenemos 19 alumnos matriculados en el Programa este curso, 16 de primer año y 3 de segundo año.

### **d) Líneas de Investigación del programa:**

Líneas Generales:

- Activación celular
- Antiangiogénicos
- Análisis de la función de los factores de crecimiento de fibroblastos (FGFS) en ratones transgénicos.
- Bases moleculares de las respuestas inmune e inflamatoria
- Biop química y farmacología de la mediación lipídica-
- Canales de K<sup>+</sup> e hipertensión arterial.
- Control de la función respiratoria.
- Desarrollo del sistema nervioso.
- Fenotipos atípicos y genes modifiacores en la fibrosis quística.
- Fisiopatología hipofisaria: plasticidad celular y tumores hipofisarios.
- Generación de vectores virales basados en el virus herpes.
- Genética del cáncer.
- Inflamación crónica y lesión intestinal.
- Inmunotoximas.
- Mecanismos moleculares de la reacción inflamatoria.
- Modulación de la homeostasis del calcio a nivel subcelular.
- Movimientos iónicos en células cardiacas humanas.
- Papel de la homeostasis del calcio en la mitocondria en el desarrollo de enfermedades mitocondriales.
- Predisposición geética a enfermedades inm,unes en la infancia.
- Proteínas recombinantes.
- Retraso mental de origen genético.
- Sensibilidad a hipoxia de canales de K
- Sobreexpresión de los FGFS mediante electroporación en embriones de pollo.
- Terapia Celular Aplicada al miocardio (TECAM)

Líneas desarrolladas en los Trabajos Tutelados de Investigación durante los últimos años:

- Analisis de la expresion de los canales de Ca<sup>2+</sup> tipo T en el cuerpo carotídeo de rata y su modulacion por hipoxia cronica
- Analisis funcional de los FGFs en el desarrollo del oido interno
- Análisis de la expresión de los canales de Ca<sup>2+</sup> tipo T en el cuerpo carotídeo de rata y su modulación por hipoxia crónica
- Caracterizacion fenotípica y funcional de las células multifuncionales adenohipofisarias
- Caracterización del papel funcional de los Kvs en la modulación fenotípica del músculo liso arterial
- Caracterización molecular y funcional de los canales de K<sup>+</sup> sensibles a hipoxia en cuerpo carotídeo de conejo
- Cardiogenesis en celulas embrionarias 12.0
- Control mitocondrial de la entrada capacitativa de calcio y la proliferacion celular: inhibicion por salicilato
- Dinámica de Ca<sup>2+</sup> en los gránulos de secreción de células cromafines

- Efectos de la ingestión de dosis moderadas de alcohol en rata sobre el estado general y la funcionalidad del cuerpo carotídeo
- Estudio de marcadores pancreáticos en células embrionarias
- La opsonización de IgG con moléculas de C3b<sub>i</sub> reduce la fosforilación de tirosinas vía syk y disminuye la inducción de citocinas
- La sobreexpresión de cPLA2a protege a las células HEK de la muerte celular inducida por sobrecarga de Ca<sup>2+</sup> citoplásmico
- Localización y caracterización funcional de los receptores A2b en el cuerpo carotídeo de rata
- Marcadores moleculares de la activación celular en la mucosa intestinal de la Enfermedad de Crohn, Colitis ulcerosa y Enfermedad
- Mecanismos moleculares implicados en la respuesta del cuerpo carotídeo a la hipoxia
- Mecanismos moleculares por los que Yersinia Pestis evade al sistema inmune adaptativo utilizando la fosfatasa YopH
- Mecanismos patogénicos de enfermedades mitocondriales: alteraciones en la homeostasis del calcio a nivel mitocondrial
- Modulación de las moléculas de adhesión por citoquinas en la línea celular 1321N1 de astrocitoma humano
- Modulación del uniportador de calcio mitocondrial
- Modulación diferencial de los canales Kv4.2 y Kv4.3 por la CamKII en miocitos cardíacos de rata
- Papel de las proteínas quinasas activadas por mitógenos en la señalización de la PLA2 secretada IIA en la línea 1321N1
- Propiedades y mecanismos antitumorales de aspirina y otros AINEs
- Quimiosensibilidad a la hipoxia y a la hipoglucemia en las Células PC12.
- Sensibilidad a la hipoxia de la médula adrenal neonatal.
- Validación de la expansión de células mesenquimales de médula ósea para uso clínico



## **e) Tutoría de tesis**

### **1. Relación de directores de tesis doctorales y de tutores de trabajos de investigación.**

M. Teresa Alonso Alonso  
Javier Alvarez Martín  
M. Angeles Balboa García  
Jesús Balsinde Rodríguez  
Emilia Carreira Monteiro  
M. Carmen Domínguez Lobatón  
Mercedes Durán Domínguez  
M. Dolores Ganfornina Alvarez  
Carmen García Rodríguez  
Fco. Javier García-Sancho Martín  
Constancio González Martínez  
José Ramón López López  
Cristina Miner Pino  
M. Teresa Montero Zoccola  
Alfredo Moreno Díez-Calderon  
M. Luisa Nieto Calleja  
Ana Obeso Cáceres  
M. Teresa Pérez García  
Ricardo J. Rigual Bonastre  
M. Asunción Rocher Martín  
Mariano Sánchez Crespo  
Ana Sánchez García  
Diego Sánchez Romero  
Thomas Schimmang  
M. Victoria Vega Agapito  
Eladio Velasco Sampedro  
Carlos Villalobos Jorge

### **2. Relación de Doctorandos activos en este momento y sus directores.**

Alejandro Moreno Domínguez  
Directores: José Ramón López López y M. Teresa Péez

Almudena Martínez Fernández  
Directores: Ana Sánchez García

Ana Lurdes Pires Cadavez Pedro  
Directores: Josefa Blanco Rodríguez

Antonio García Trinidad  
Directores: Andrés Alonso García, Mariano Sánchez Crespo

Blanca López Posadas  
Diretores: Alfredo Blanco Quirós, Isabel Fernández Carvajal

Christine Walhquist Walhquist  
Directores: Ana Sánchez García

David Bernardo Ordiz  
Directores: Eduardo Arranz Sanz, José Antonio Garrote Adrados:

David José Sanz San José  
Directores: Cristina Miner Pino , Eladio Velasco Sampedro

Eduardo Burgueño Sanchez-Taiz  
Directores: Alfredo Blanco Quirós

Elena Domínguez de Frutos  
Directores: Thomas Schimmang

Elvira Ibeas Martín  
Directores: M. Luisa Nieto Callejo

Isabel Martín Manjarrés  
Directores: Fco. Javier García-Sancho, M. Teresa Alonso Alonso

José Pindado Rodríguez  
Directores: M. Angeles Balboa García

Lucía Pérez Cabornero  
Directores: Cristina Miner Pino

Luis Rodriguez-Tabernero Martín  
Directores: José María Fidel Fernández Gomez

Maria del Carmen García Arévalo  
Directores Alfredo Blanco Quirós, Eduardo Arranz Sanz

María Luísa Puertas Turrillas  
Directores Andrés Alonso García, Yolanda Bayón González

Raquel Bajo Grañeras  
Directores: Diego Sánchez Romero, M. Dolores Ganfornina Alvarez

Rubén Martín Montaña  
Directores M. Luisa Nieto Callejo

Ruth Ana Valero López  
Directores: Carlos Villalajos Jorge, Lucia Nuñez Llorente

Sara Isabel Sanz Blasco  
Directores: Carlos Villalajos Jorge, Lucia Nuñez Llorente

Silvia Patricia Fernández Martínez  
Directores: Ricardo J. Rigual Bonastre

**f) Relación de las tesis doctorales defendidas en el programa y relación de las publicaciones derivadas de las mismas.**

**Estela M. Carnicero Gila**

Titulo de la Tesis: Los factores neurotróficos en el desarrollo de las neuronas auditivas y de la papila basilar

Año: 2001

Calificación: Sobresaliente *cum laude*

Directores: M. Teresa Alonso Alonso, Thomas Schimmang

- E. Carnicero, M. Knipper, J. Tan, M. T. Alonso and T. Schimmang (2002) Herpes simplex virus type 1-mediated transfer of neurotrophin-3 stimulates survival of chicken auditory sensory neurons. *Neurosci. Lett.* 321:149-
- M. Praetorius, M. Knipper, B. Schick, J. Tan, A. Limberger, E. Carnicero, M.T. Alonso and T. Schimmang. (2003) A novel vestibular approach for gene transfer into the inner ear. *Audiol.&Neurootol.* 7: 324-334

**Maria Fernanda Rodríguez Sanz**

Tesis titulada: Estudio clínico y genético de familias españolas afectadas por la enfermedad de Darier-White.

Año: 2002

Calificación: Sobresaliente *cum laude*

Director: ELADIO VELASCO SAMPEDRO

**Isabel Yugueros Fernández**

Tesis titulada: Factores inmunogenéticos en la esclerosis múltiple.

Año: 2002

Calificación: Sobresaliente *cum laude*

Directores: Eduardo arranz Sanz, José Antonio Garrote Adrados

- Sanabria Ruiz-Colmenares MR, Pastor Jimeno JC, Garrote Adrados JA, Telleria Orriols JJ, Yugueros Fernandez MI. (2006) Cytokine gene polymorphisms in retinal detachment patients with and without proliferative vitreoretinopathy: a preliminary study . *Acta Ophthalmol Scand.* 84:309 313

**Victor D. Vendrell Laguna**

Tesis titulada: Ducción y control del desarrollo del oído interno por factores de crecimiento de fibroblastos (FGPs) en vertebrados.

Año: 2002

Calificación: Sobresaliente *cum laude*

Directores: Thomas Schimmang, Fernando Giráldez

- Y. Alvarez, M.T. Alonso, V. Vendrell, L. Zelarayan, P. Chamero, T. Theil, M. Bösl, S. Kato, M. Maconochie and T. Schimmang Requirements for FGF-3 and FGF-10 during inner ear formation. *Development* 130:6329-6338

**Yolanda Pérez Bragado**

Tesis titulada: Clonación y caracterización de genes de proteínas inactivadoras de ribosomas de las especies *Sambucus ebulus* L. y *Beta vulgaris* Subsp. *vulgaris*

Año 2002

Calificación: Sobresaliente *cum laude*

Directores: M. del Rosario Iglesias Alvarez y Tomás Girbés Juan

- Iglesias, R., Pérez, Y., de Torre, C., Ferreras, J.M., Antolín, P., Jiménez, P., Rojo, M.A., Méndez, E. and Girbés, T (2005) Molecular characterization and systemic induction of single-chain ribosome-inactivating proteins (RIPs) in sugar beet (*Beta vulgaris*) leaves. *Journal of Experimental Botany* 56: 1675-1684

#### **Marta A. Renedo Garrido**

Tesis titulada: Estudio de la señalización a través de receptores FCYR y sus efectos proinflamatorios en células monocíticas.

Año: 2003

Calificación: Sobresaliente *cum laude*

Directores: Mariano Sánchez Crespo, Nieves Fernández García

- Fernández N, Renedo M, Garcia-Rodriguez C, Sanchez Crespo (2002) Activation of monocytic cells through Fc gamma receptors induces the expression of macrophage-inflammatory protein (MIP)-1 alpha, MIP-1 beta, and RANTES. *Journal of Immunology* 169: 3321-3328
- Fernández N, Renedo M, Sanchez Crespo (2002) Fc gamma R receptors activate MAP kinase and up-regulate the cyclooxygenase proinflammatory pathway without increasing arachidonic acid release in monocytic cells. *European Journal of Immunology* 32: 383- 392

#### **M. Begoña Barriuso Magdaleno**

Tesis Titulada: Antitumorales con rips de tipo 1 recombinantes (musarminas) y nativas (saporina y momordina)

Año: 2003

Calificación: Sobresaliente *cum laude*

Directores: Fco. Javier Arias Vallejo, Tomás Girbés Juan

- Arias FJ, Antolin P, de Torre C, Barriuso B, Iglesias R, Rojo MA, Ferreras JM, Benvenuto E, Mendez E, Girbes T. (2003) Musarmins: three single-chain ribosome-inactivating protein isoforms from bulbs of *Muscari armeniacum* L. and Miller. *Int J Biochem Cell Biol.* 35: 61-78
- Antolin P, Girotti A, Arias FJ, Barriuso B, Jimenez P, Rojo MA, Girbes T. (2004) Bacterial expression of biologically active recombinant musarmin 1 from bulbs of *Muscari armeniacum* L. and Miller. *J Biotechnol.* 112: 313-322

#### **María Angeles Suárez Rodríguez**

Tesis titulada: Utilidad de las interleukinas 6 y 8 para la localización de la infección urinaria y el pronóstico de daño renal crónico en niños

Año: 2004

Calificación: Sobresaliente *cum laude*

Director ALFREDO BLANCO QUIRÓS

#### **Yolanda Arias Piedras**

Tesis titulada: Utilización de la proteína inactivadora de ribosomas nigrina b en la construcción de inmunotoxinas contra la vasculatura tumoral

Año: 2004

Calificación: Sobresaliente *cun laude*

Directores: Tomás Girbés Juan y Raquel Muñoz Martínez

- Muñoz R, Arias Y, Ferreras JM, Jiménez P, Rojo MA, Girbés T Sensitivity of cancer cell lines to the novel non-toxic type 2 ribosome-inactivating protein nigrin b. *Cancer Letters* 167, 163-169 (2001)

- Girbés T, Ferreras JM, Arias FJ, Muñoz R, Iglesias R, Jiménez P, Rojo MA, Arias Y, Pérez Y, Benítez J, Sánchez D, Gayoso MJ Non-toxic type 2 ribosome-inactivating proteins (RIPs) from Sambucus: occurrence, cellular and molecular activities and potential uses. Cellular and Molecular Biology 49, 537-545 (2003)
- Benítez J, Ferreras JM, Muñoz R, Arias Y, Iglesias R, Córdoba-Díaz M, del Villar R, Girbés T. Cytotoxicity of an ebulin I-antihuman CD105 immunotoxin on mouse fibroblasts (L929) and rat myoblasts (L6E9) cells expressing human CD105. Medicinal Chemistry 1, 65-70 (2005)
- Gayoso, M.J., Muñoz, R., Arias, Y., Villar, R., Rojo, M.A., Jiménez, P., Ferreras, J.M., Arangué, I. and Girbes, T. Specific dose-dependent damage of Lieberkühn crypts promoted by large doses of type 2 ribosome-inactivating protein nigrin b intravenous injection to mice. Toxicology and Applied Pharmacology 207: 138-146, 2005
- R. Muñoz, Y. Arias, J.M. Ferreras, M.A. Rojo, M.J. Gayoso, M. Nocito, J. Benítez, P. Jiménez, C. Bernabéu and T. Girbés. Targeting a marker of the tumor neovasculature using a novel anti-human CD105-immunotoxin containing the non-toxic type 2 ribosome inactivating protein nigrin b. Cancer Letters 256: 73-80, 2007

### **Roberto Alonso Gil**

Puesto actual: Investigador Postdoctoral, Barcelona España.

Tesis titulada: Regulación de la muerte celular inducida por activación de linfocitos T: papel de la diacilglicerol quinasa  $\alpha$ .

Año: 2005

Calificación: Sobresaliente "*cum laude*" (Defendida en la UAM)

Director: Manuel Izquierdo Redondo

### **Jesús Prieto Lloret.**

Puesto Actual: Investigador Postdoctoral, IBGM, UVA-CSIC, Valladolid, España.

Tesis titulada: Hiperoxia perinatal y respuesta del cuerpo carotídeo y de las arterias pulmonares a la hipoxia. Función del cuerpo carotídeo en knockouts para receptores NK1 y D2.

Año: 2005

Calificación: Sobresaliente Cum Laude

Director: Constancio González Martínez, Ricardo Rigual Bonastre y Javier Castañeda

- Rigual R, Rico AJ, Prieto-Lloret J., De Felipe C, González C. and Donnelly DF. Chemoreceptor activity is normal in mice lacking NK1 receptor. Eur J. Neurosci. 16:2078-2084, 2002
- Prieto-Lloret J, Cáceres AI, Rigual R, Obeso A, Rocher A, Bustamante R, Castañeda J, López-López JR, Pérez-García T, Agapito T and González C. Effects of perinatal hyperoxia on carotid body chemoreceptor activity in vitro. Adv. Exp. Med. Biol 536: 517-524, 2003
- Rico AJ, Prieto-Lloret DF, Donnelly C, De Felipe C, Gonzalez C and Rigual R. The use of NK-1 receptor null mice to assess the significance of substance P in the carotid body function. Ad. Exp. Med. Biol. 536:327-336, 2003

### **Gloria Sanz Alfayate.**

Puesto Actual: Funcionario Sanitario. Palencia, España.

Tesis titulada: Estado redox celular y actividad de las células quimiorreceptoras del cuerpo carotídeo en normoxia e hipoxia

Año: 2005

Calificación: Sobresaliente *cum laude*

Director: Constancio González, Ana Obeso y M<sup>a</sup> Teresa Agapito

- Sanz.Alfayate GM., Obeso A., Agapito M.T. and Gonzalez C. (2001) Reduced to oxidized glutathione ratios and oxygen sensing in calf and rabbit carotid body chemoreceptor cells. J. Physiol. 537:209-220

- Gonzalez C., Sanz-Alfayate G., Agapito MT, Gómez-Niño A., Rocher A. and Obeso C. (2002) Significance of ROS in oxygen sensing in cell systems with sensitivity to physiological hypoxia. *Respir Physiol. Neurobiol.* 132:17-41
- Sanchez D., Ganfornina MD., López-López JR., Obeso A., Pérez-García MT, Sanz-Alfayate G., González C. (2002) Molecular identification of K $\alpha$  subunits Oxígeno en la Transducción de la Hipoxia that contribute to the oxygen-sensitive K(+) current of chemoreceptor cells of the rabbit carotid body. *J. Physiol.* 542:369-382
- López-López JR., Pérez-García MT., Sanz-Alfayate G., Obeso A., and González C. (2003) Functional identification of K $\alpha$  subunits contributing to the O<sub>2</sub>-sensitive K<sup>+</sup> current in rabbit carotid body chemoreceptor cells. *Adv. Exp. Med. Biol.* 536:33-39
- Gonzalez C., Sanz-Alfayate G., Obeso A. and Agapito MT (2004) Role of glutathione redox state in oxygen sensing by carotid body chemoreceptor cells. *Methods in Enzymology.* 381: 40-71
- Gonzalez C., Sanz-Alfayate G., Agapito MT and Obeso A. (2004) Effects of reducing agents on the metabolism of glutathione and on the function of the carotid body chemoreceptor cells. *Biol. Chem.* 385:265-274

### **Lucía Fuentes Arroyo**

Puesto Actual: Investigador Postdoctoral, Lille, Francia

Tesis titulada: Papel de la fosfolipasa A2 secretada de tipo IIA en el desarrollo de las lesiones inflamatorias asociadas a la aterosclerosis.

Año: 2005

Calificación: Sobresaliente *cum laude*

Directora: M<sup>a</sup> Luisa Nieto Callejo

- Fuentes L, Hernandez M, Nieto ML, Sanchez Crespo M. (2002) Biological effects of group IIA secreted phospholipase A(2). *Febs Letters* 531: 7 -11
- Fuentes L, Hernandez M, Fernandez-Aviles FJ, Crespo MS, Nieto ML (2002) Cooperation between secretory phospholipase A2 and TNF-receptor superfamily signaling: implications for the inflammatory response in atherogenesis. *Circulation Research* 91: 681-688
- Hernandez M, Fuentes L, Fernandez Aviles FJ, Crespo MS, Nieto ML (2002) Secretory phospholipase A(2) elicits proinflammatory changes and upregulates the surface expression of fas ligand in monocytic cells: potential relevance for atherogenesis. *Circulation Research* 90: 38-45

### **Pablo Chamero Benito**

Puesto Actual: Investigador Postdoctoral, San Diego, EE.UU.

Tesis titulada: Dinámica del calcio mitocondrial y nuclear en las células GH3.

Año: 2005

Calificación: Sobresaliente "cum laude"

Directores: Javier García-Sancho y M<sup>a</sup> Teresa Alonso

- Chamero P, Villalobos J, Alonso MT, García-Sancho, Javier (2002) Dampening of cytosolic Ca<sup>2+</sup> oscillations on propagation to nucleus.. *J.BIOL. CHEM* 277: 50226-50229
- Alonso, MT.; Villalobos, C.; Chamero, P.; García-Sancho, Javier. (2005) Fura-2 antagonises calcium-induced calcium release. *Cell Calcium* 33:27-35
- Villalobos, C.; Nadal, A.; Nuñez L.; Quesada, I.; García-Sancho, Javier; Chamero, P; Alonso, MT. (2005) Bioluminescence imaging of nuclear calcium oscillation in intact pancreatic. *Cell Calcium* 38(2)131-139

### **Rebeca Pérez Fernández.**

Puesto Actual: Investigador Postdoctoral, CBM, UAM-CSIC, Madrid, España.

Tesis titulada: Funciones biológicas de la fosfolipasa A2 independiente de calcio de grupo VIA en

las células U937 Año: 2005  
Calificación: Sobresaliente Cum Laude  
Directores: Jesús Balsinde y M<sup>a</sup> Angeles Balboa

### **Eva M<sup>a</sup> Esteban Cardeñosa**

Puesto Actual: Investigador Postdoctoral, Hospital La Fe, Valencia, España  
Tesis titulada: Análisis molecular de los genes brca1 y brca2 en pacientes con cáncer de mama y ovario. desarrollo de un nuevo método de detección de mutaciones.  
Año: 2005  
Calificación: Sobresaliente Cum Laude.  
Directores. Cristina Miner Pino y Eladio Velasco

- Diez O, Osorio A, Duran M, Martinez-Ferrandis JI, de la Hoya M, Salazar R, Vega A, Campos B, Rodriguez-Lopez R, Velasco E, Chaves J, Diaz-Rubio E, Jesus Cruz J, Torres M, Esteban E, Cervantes A, Alonso C, San Roman JM, Gonzalez-Sarmiento R, Miner C, Carracedo A, Eugenia Armengod M, Caldes T, Benitez J, Baiget M. (2003) Analysis of BRCA1 and BRCA2 genes in Spanish breast/ovarian cancer patients: A high proportion of mutations unique to Spain and evidence of founder effects. *Human Mutation* 22: 301-312
- Durán E, Esteban-Cardena E, Velasco E, Infante M, Miner C (2003) Mutational analysis of the BRCA2 gene in Spanish breast cancer patients from Castilla-Leon: identification of four novel truncating mutations *Human Mutation* 21: 448
- Esteban-Cardena E, Durán M, Infante M, Velasco E, Miner C. (2004) A high-throughput mutation detection method to scan BRCA1 and BRCA2 based on heteroduplex analysis by capillary array electrophoresis. *Clinical Chemistry* 50: 313-320

### **Ignacio Díez López**

Tesis titulada: Influencia de las variantes genéticas en la respuesta al tratamiento del asma  
Año: 2006  
Calificación: Sobresaliente *cum laude*.  
Director. Juan José Tellería Orriols

- Juan J Tellería, Alfredo Blanco-Quirós, Sandra Muntión, Jose A Garrote, Eduardo Arranz, Alicia Armentia, Ignacio Díez and Jesús Castro (2006) Tachyphylaxis to beta2-agonists in Spanish asthmatic patients could be modulated by ADRB2 gene polymorphisms. *Respirat Med* 100:1072-1078

### **Armenia Riesco Fagundo.**

Puesto Actual: Profesor Enseñanza Secundaria, Valladolid, España.  
Tesis Titulada: Modulación por O<sub>2</sub> de los canales de potasio dependientes de calcio en cuerpo carotídeo de rata.  
Año: 2006.  
Calificación: Sobresaliente *cum laude*.  
Directores: M<sup>a</sup> Teresa Pérez García y José Ramón López López.

- Riesco-Fagundo, AM, Pérez-García, M.T., González, C. and López-López, J.R (2002) O<sub>2</sub> Modulates Large-Conductance Ca<sup>2+</sup>-Dependent K<sup>+</sup> Channels of Rat Chemoreceptor Cells by a Membrane-Restricted and CO-Sensitive Mechanism. *Circulation Research* 89, 430-436
- Pérez-García, M.T., López-López, J.R., Riesco, A.M., Hoppe, U.C., Marbán, E., González, C. and Johns, (2002) Viral gene transfer of dominant-negative Kv4 construct supresses an O<sub>2</sub>-sensitive K<sup>+</sup> current in chemoreceptor cells. *J. Neurosci.* 20, 5689-5695

### **Laura Senovilla González.**

Puesto Actual: Investigador Postdoctoral, CNRS, Paris, Francia.  
Tesis titulada: Caracterización fenotípica y funcional de las células multifuncionales adenohipofisarias.

Año: 2006

Calificación: Sobresaliente *cum laude*.

Directores. Carlos Villalobos Jorge y Javier García-Sancho Martín.

- Núñez L, \*Villalobos C, Senovilla, L, García-Sancho J (2003) Multifunctional cells of mouse anterior pituitary reveal a striking sexual dimorphism. *Journal of Physiology (London)* 549: 835-843
- Senovilla, L.; Nuñez, I.; De Campos, JM.; Luis Roman, DA.; Romero, E.; Sanchez, A.; Villalobos, C.; García-Sancho, Javier (2004) Multifunctional cells in human pituitary adenomas: implications for paradoxical secretion and tumorigenesis *Jr Clin. Endocr. & Metabol.* 89(9): 4545-4552
- Senovilla, L., Villalobos C., García-Sancho J. (2005) Changes in expression of hypothalamic releasing hormone receptors in individual rat anterior pituitary cells du maturation, puberty and senescence. *Endocrinology*, 146(11): 4627-4634

### **Alberto José León Arroyo**

Puesto Actual: Investigador Postdoctoral, China.

Tesis titulada: Marcadores inflamatorios en enfermedad celiaca, colitis ulcerosa y Enfermedad de Chron

Año: 2006

Calificación: Sobresaliente Cum Laude.

Directores. Eduardo Arranz Sanz y José Antonio Garrote Adrados

- Leon AJ, Garrote JA, Blanco-Quiros A, Calvo C, Fernandez-Salazar L, del Villar A, Barrera A, Arranz E (2006) Interleukin 18 maintains a long-standing inflammation in celiac disease patients. *Clin Exp Immunol*, 146, 479-485

### **Carlos Cuesta Herranz**

Tesis titulada: Implicación de la cucaracha común como alérgeno doméstico

Año: 2006

Calificación: Sobresaliente Cum Laude.

Directores. Alfredo Blanco Quirós

### **Maria Pilar Bahillo Curieses**

Tesis titulada: Epidemiología de la diabetes tipo I en Castilla y Leon (2003-04)

Año 2006

Calificación: Sobresaliente Cum Laude.

Director: ALFREDO BLANCO QUIRÓS

### **Sara Isabel Marin Urueña**

Tesis titulada: Prevalencia de dermatitis atópica en adolescentes de Valladolid. Evolución 1995-2003

Año 2006

Calificación: Sobresaliente Cum Laude.

Director: ALFREDO BLANCO QUIRÓS

### **Alberto José Rico Martín**

Puesto Actual: Investigador Postdoctoral. CIMA, Pamplona, España.

Tesis titulada: Quimiosensibilidad de la médula adrenal neonatal de rata: estudio in vitro

Año: 2007

Calificación: Sobresaliente Cum Laude.

Directores. Constancio González Martínez y Ricardo Rigual Bonastre



- Rico AJ, Prieto-Lloret J, DF. Donnelly C. De Felipe C. Gonzalez C and Rigual R. The use of NK-1 receptor null mice to assess the significance of substance P in the carotid body function. *Adv. Exp. Med. Biol.* 536: 327-336.
- Rico AJ., Prieto-Lloret J, Gonzalez C, and Rigual R. Hypoxia and hypercapnic acidosis increase the secretion of catecholamines in the neonatal rat adrenal medulla: an in vitro study. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 289: C1417-C1425, 2005
- Rico AJ., Fernández SP, Prieto-Lloret J., Gomez-Niño A, Gonzalez C. and Rigual R. A comparative study of the hypoxic secretory response between neonatal adrenal medullal and adult carotid body from the rat. In: *Arterial Chemoreceptors* (Ed. Y. Hayashida, C. González and H. Kondo). Springer NY. 2006, pp.155-160

### **Ana González Vigo.**

Puesto Actual: Investigador Postdoctoral, CIB, CSIC, Madrid, España

Tesis titulada: Metabolismo oxidativo del ácido araquidónico y regulación de la ciclooxygenasa 2 en la respuesta inmune innata.

Año: 2007

Calificación: Sobresaliente Cum Laude.

Directores. Mariano Sánchez Crespo y Nieves Fernández

### **Ana Isabel Cáceres Bustos**

Puesto Actual: Investigador Postdoctoral, Yale University, EE.UU.

Tesis titulada: Estudio de los mecanismos moleculares implicados en la respuesta adaptativa del cuerpo carotídeo a la hipoxia crónica

Año: 2007

Calificación: Sobresaliente Cum Laude.

Directores. Asunción Rocher y Constancio González Martínez

- Rocher A., Geijo E., Cáceres AI, González C., Almaraz L. A reevaluation of the mechanisms involved in the secretion of catecholamine evoked by 2,4 dinitro-phenol from chemoreceptor cells of the rabbit carotid body. *Adv. Exp. Med. Biol.* 536: 85-93, 2003
- Rocher A., Geijo-Barrientos E., Cáceres AI, Rigual R., González C., Almaraz L. Role of voltage dependent calcium channels in stimulus-secretion coupling in rabbit carotid body chemoreceptor cells. *J. Physiol.* 562: 407-420, 2005
- Guilles-Gonzalez MA, Cáceres AI, Sousa EH, Tomchick DR, Brautigan C, González C. Machius MA Proximal Argining R206 participates in switching fo the bradyrhizobium japonicum FixL oxygen sensor. *J. Mol. Biol.* 360: 80-9, 2006
- Cáceres AI, Obeso A, González C. and Rocher A. Molecular identification and functional role of voltage-gated sodium channels in rat carotid body chemoreceptor cells regulation of expression by chronic hypoxia in vivo. *J. Neurochem* 102(1):231-45, 2007

### **Mónica Aceves Tejero**

Tesis titulada: Estudio de la regulación del factor de transcripción NFAT1 y de su modulación farmacológica por salicilatos y derivados trifluorometilados.

Año: 2007

Calificación: Sobresaliente Cum Laude.

Directores. M<sup>a</sup> Carmen García Rodríguez, Mariano Sánchez Crespo

### **M<sup>a</sup> Lourdes del Río Solá**

Tesis titulada: Efecto del ácido acetil salicílico en la úlcera venosa de la extremidad inferior y en la expresión génica de quemoquinas proinflamatorias en venas con insuficiencia venosa crónica.

Año: 2007

Calificación: Sobresaliente Cum Laude.

Directores. José Antonio González Fajardo, M<sup>a</sup> Carmen García Rodríguez, Carlos Vaquero Puerta

### **Silvia V. Conde**

Tesis titulada: Functional significance of adenosine in carotid body chemosensory activity in control and chronically hypoxic animals.

Año 2007

Calificación: Apto "cum laude"

Directores: Constancio González, Emilia Monteiro, Ana Obeso

- S.V. Conde, A.I. Cáceres, I. Vicario, A. Rocher, A. Obeso and C. Gonzalez. An overview on the homeostasis of  $Ca^{2+}$  in chemoreceptor cells of the rabbit and rat carotid bodies. In Arterial Chemoreceptors (Ed. Y. Hayashida, C. Gonzalez and H. Kondo). Springer, NY. 2006, pp. 215-222
- S.V. Conde, A. Obeso, I. Vicario, R. Rigual, A. Rocher and C. Gonzalez. Caffeine inhibition of rat carotid body chemoreceptors is mediated by A2A and A2B adenosine receptors. *J. Neurochem.* 98: 616-628, 2006
- S.V. Conde, A. Obeso, R. Rigual, E.C. Monteiro and C. Gonzalez. Function of the rat carotid body chemoreceptors in aging. *J. Neurochem.* 99(3): 711-723, 2006
- S.V. Conde, A. Obeso, and C. Gonzalez. Low glucose effects on rat carotid body chemoreceptor cells secretory responses and action potential frequency in the carotid sinus nerve. *J. Physiol.* 585(Pt. 3): 721-730, 2007

### **Emma Gómez González**

Tesis Titulada: Vías de activación intracelular de citocinas en el intestino de pacientes con enfermedad celíaca, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa".

Año: 2007

Calificación: Sobresaliente "cum laude"

Directores: Eduardo Arranz Sanz, José Antonio Garrote Adrados

- JA. Garrote, E. Gómez, AJ. León, D. Bernardo, C. Calvo, L. Fernández-Salazar, A. Blanco-Quirós, E. Arranz. "Cytokine, chemokine and immune activation pathway profiles in Celiac Disease: An immune system activity screening by expression macroarrays". *Drug Target Insight* 2008

### **M. Carmen González Martín**

Tesis titulada: Efectos de la hipoxia crónica sostenida e intermitente. Modelos de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y del síndrome de apnea del sueño en humanos.

Año 2008

Calificación: Sobresaliente "cum laude"

Directores: Constancio González Martínez y M. Victoria Vega Agapito

- C. González, M.T. Agapito, A. Rocher, MC González-Martín, V. Vega-Agapito, A. Gómez-Niño, R. Rigual, J. Castañeda, A. Obeso (2007) Chemoreception in the context of the general biology of ROS. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 157(1): 30-44

### **M<sup>a</sup> Mar Infante Sanz**

Tesis titulada: Cáncer de mama y ovario hereditario. Estudio molecular de los genes BRCA1 y BRCA2. Efecto fundador de las mutaciones más frecuentes en Castilla y León.

Año 2008

Calificación: Sobresaliente "cum laude"

Directores: Eladio Velasco Sampedro, Mercedes Durán Domínguez, Cristina Miner Pino

- Eladio Velasco Sampedro, Eva Esteban Cardeñosa, Mar Infante Sanz, Mercedes Durán Domínguez, Enrique Lastra Aras, Carlos García Girón y Cristina Miner Pino. Estudio molecular de los genes BRCA1 y BRCA2 en 153 familias con cáncer de mama de Castilla y León (España): identificación de nueve variantes de efecto desconocido no descritas. *Med. Clin (Barc)* 2002; 119(12):441-5

- Mercedes Durán, Eva Esteban-Cardena, Eladio Velasco, Mar Infante and Cristina Miner. Mutational Analysis of BRCA2 in Spanish Breast Cancer Patients from Castilla-León: Identification of Four Novel Truncating Mutations. Human Mutation. Mutation in Brief #597 (003) Online 2003 Wiley-Liss, Ins. DOI:10.1002/humu.9126
- Eva Esteban-Cardena, Mercedes Duran, Marn Infante, Eladio Velasco and Cristina Miner High-Throughput Mutation Detection Method to Scan BRCA1 and BRCA2 Based on Heeroduplexs Analysis by Capillary Array Electrophoresis. Clinican Chemistry (2004), 50:2 313-320
- Eladio Velasco, Mar Infante, Mercedes Durán, Eva Esteban-Cardena, Enrique Lastra, Carlos García-Girón, Cristina Miner. Rapid mmutation detection in complex genes by heteroduplex analysis with capillary array electrophoresis. Electrophoresis (2006), 26, 2539-2552
- Mar Infante, Mercedes Durán, Eva Esteban-Cardena, Cristina Miner, Eladio Velasco. High propotion of novel mutations of BRCA1 and BRCA2 in breast/ovarian caner patients from Castilla-León (Central Spain). J. Hum. Genet (2006), 51:611-617
- Eladio Velasco, Mar Infante, Mercedes Durán, Lucía Pérez-Carbornero, David J. Sanz, Eva Esteban-Cardena & Cristina Miner. Heteroduplex analysis by capillary array electrophoresis for rapid mutation detection in large multiexon genes. Nature Protocols (2007), 2 (1):237-246

### **Olaia Colinas Miranda**

Tesis titulada: Fisiología molecular de los canales Kv4: modulación por fosforilación y por subunidades accesorias

Año 2008

Calificación: Sobresaliente "cum laude"

Directores: José Ramón López López, M. Teresa Pérez García

- Colinas O., Gallego M., Setién R., López-López JR., Pérez-García MT. and Casis O. (2006). CaMKII modulates differentially Kv4.2 and Kv4.3 channels in rat cardiac myocytes. American Journal of Physiology (Heart Circ. Physiol.) 291(4): H1978-87
- Colinas O., Pérez-Carretero FD., López-López JR. and Pérez-García MT (2008) A role for DPPX modulating external TEA sensitivity of Kv4 channels. Journal of General Physiology (en revisión)

### **Laura Vay del Caño**

Modulación de la señal de calcio celular por los flujos de calcio mitocondriales.

Año 2008

Directores: Javier Alvarez Martín, Mayte Montero Zoccola

- Hernández-Sanmiguel E., Vay L., Santo-Domingo J., Lobatín C.D., Moreno A., Montero M. and Alvarez J. (2006). The mitochondrial Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger plays a key role in the control of cytosolic Ca<sup>2+</sup> oscillations. Cell Calcium, 40, 53-61
- Vay L., Hernández-Sanmiguel E., Santo-Domingo J., Lobatón CD., Moreno A., Montero M. and Alvarez J. (2006). Modulation of Ca<sup>2+</sup> release and Ca<sup>2+</sup> oscillations in HeLa cells and fibroblasts by mitochondrial Ca<sup>2+</sup> uniporter stimulation. J. Physiol. 580:39-49
- Santo-Domingo J., Vay L., Hernández-Sanmiguel E., Lobatón CD., Moreno A., Montero M. and Alvarez J. (2007) The plasma membrane Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchange inhibitor KB-R7943 is also a potent inhibitor of the mitochondrial Ca<sup>2+</sup> uniporter. Br. J. Pharmacol. 151: 647

### **Jaime Santo Domingo Mayoral**

Dinámica de calcio en vesículas de secreción de células neuroendocrinas.

Año 2008

Directores: Javier Alvarez Martín, Alfredo Moreno Díaz-Calderón

- Moreno, A., Lobatón, C.D., SantoDomingo, J., Vay, L., Hernández-SanMiguel, E., Rizzuto, R., Montero, M and Alvarez, J. (2005) Calcium dynamics in catecholamine-containing secretory vesicles. *Cell Calcium* 37, 555-64.
- SantoDomingo, J., Vay, J., Camacho, M., Hernández-SanMiguel, H., Fonteriz, R.I., Moreno, A., Lobatón, C.D., Montero, M. and Alvarez, J. Calcium dynamics in bovine adrenal medulla chromaffin cell secretory granules. En revisión.

### **Esther Hernández San Miguel**

Modulación del uniportador de calcio mitocondrial por flavonoides y estrógenos.

Año 2008

Directores: Javier Alvarez Martín, M. Carmen Domínguez Lobatón

- Montero M., Lobatón CD., Hernández-Sanmiguel E., Santodomingo J., Vay L., Moreno A., Alvarez J. (2004) Direct activation of the mitochondrial calcium uniporter by natural plant flavonoids. *Biochem. J.* 384(Pt 1): 19-24
- Lobatón CD., Vay L., Hernández-Sanmiguel E., Santodomingo J., Moreno A., Montero M., Alvarez J. (2005) Modulation of mitochondrial Ca<sup>2+</sup> uptake by estrogen receptor agonists and antagonists. *Br. J. Pharmacol.* 145(7): 862-71

### **Javier Casas Requena**

Regulación de la fosfolipasa A<sub>2</sub> citosólica del grupo IVA(cPLA<sub>2α</sub>): papel en muerte celular y fagocitosis

Año 2008

Directores: M<sup>a</sup> Angeles Balboa García y Jesús Balsinde Rodríguez

- Casas J., Gijón MA, Vigo AG., Cresp MS, Balsinde J, Balboa MA. Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate anchors cytosolic group IVA phospholipase A2 to perinuclear membranes and decreases its calcium requirement for translocation in live cells. (2006) *Mol. Biol. Cell.* 17(1): 155-162
- Casas J, Gijón MA, Vigo AG, Crespo MS, Balsinde J, Balboa MA. Overexpression of cytosolic group IVA phospholipase A2 protects cells from Ca<sup>2+</sup>-dependent death. (2006) *J. Biol. Chem.* 281():6106-16
- Ruipérez V, Casas J, Balboa MA, Balsinde J. Group V phospholipase A2-derived lysophosphatidylcholine mediates cyclooxygenase-2 induction in lipopolysaccharide-stimulated macrophages. (2007) *J. Immunol.* 179(1):631-8

**g) Relación de proyectos de investigación que para el curso 2008-2009 están en activo**

**CIBER de Enfermedades Respiratorias del FIS**

Duración del Proyecto: 2007-2009 (3 años).

Entidad que financia el proyecto: Red del Instituto de Salud Carlos III (CB06/06/0050)

Presupuesto del Proyecto: 390.000 €

Investigador Principal: Dr. Constancio Gonzalez Martínez

**Papel de la mitocondria y el calcio subcelular en el control de la proliferación celular: implicaciones farmacológicas.**

Duración del Proyecto: 2007-2009 (3 años)

Entidad que financia el Proyecto: Mº Educación y Ciencia. (BFU2006-05202).

Presupuesto del Proyecto: 163.350 €.

Investigador Principal: Dr. Carlos Villalobos Jorge

**Utilización de cementoblastos en terapia celular periodontal.**

Duración del Proyecto: 2007-2008 (2 años)

Entidad que financia el Proyecto: Federación de Cajas de Ahorros de Castilla y León.

Presupuesto del Proyecto: 60.000 €.

Investigador Principal: Dr. Carlos Villalobos Jorge

**Caracterización de una nueva proteína que contiene un dominio BTB e interacciona con la fosfatasa VHR.**

Duración del Proyecto: 2007-2009 (3 años)

Entidad que financia el Proyecto: Mº Educación y Ciencia

Presupuesto del Proyecto: 121.000 €

Investigador Principal: Dr. Andrés Alonso García

**Lyp, una nueva fosfatasa de tirosinas implicada en enfermedades autoinmunes. Estudio de su mecanismo de acción molecular**

Duración del Proyecto: 2007-2009 (3 años)

Entidad que financia el Proyecto: Fundación Mutua Madrileña

Presupuesto del Proyecto: 56.000 €

Investigador Principal: Dra. Yolanda Bayón Prieto

**Nodo de Castilla y León de medicina regenerativa.**

Duración del Proyecto: Acción especial

Entidad que financia el Proyecto: Acción Especial Junta de Castilla y León y Fondo de Investigaciones Sanitarias.

Presupuesto del Proyecto: 487.000 €/año

Investigador Principal: Ana Sánchez

**Red de terapia celular del Instituto de Salud Carlos III**

Entidad que financia el Proyecto: Fondo de Investigaciones Sanitarias

Presupuesto del Proyecto: 288.500 € (1er año).

Investigador Principal: Ana Sánchez

**Influencia de las variantes de efecto fisiológico desconocido de los genes BRCA1 y BRCA2 en las alteraciones del procesamiento de ARNm. Correlación entre eliminación de elementos clave, reguladores del splicing y susceptibilidad genética a cáncer de mama.**

Duración del Proyecto: 2007-2009 (3 años)

Entidad que financia el Proyecto: Fondo de Investigaciones Sanitarias (PI06/1102)

Presupuesto del Proyecto: 73.326 €

Investigador Principal: Dr. Eladio Velasco

**Regeneración cardiaca por células madre adultas y embrionarias.**

Duración del Proyecto: 2007-2009 (3 años)

Entidad que financia el Proyecto: Fondo de Investigaciones Sanitarias (PI060/480)

Presupuesto del Proyecto: 125.840 €

Investigador Principal: Ana Sánchez

**Bases moleculares del componente inflamatorio en la aterosclerosis: papel de las proteínas de fase aguda en la progresión de la lesión vascular**

Duración del Proyecto: 2006-2008 (3 años)

Entidad que financia el Proyecto: M<sup>o</sup> Educación y Ciencia (SAF2005-01242).

Presupuesto del Proyecto: 121.000 €

Investigador Principal: Dr. M<sup>a</sup> Luisa Nieto Callejo

**Regulación de la expresión y la actividad de ciclooxigenasa 2 en la Enfermedad de Alzheimer.**

Duración del Proyecto: 2006-2008 (3 años)

Entidad que financia el Proyecto: Fundación La Caixa

Presupuesto del Proyecto: 151.000 €

Investigador Principal: Dr. Jesús Balsinde Rodríguez

**Estudio de la atenuación de la activación de receptores tipo Toll por esfingosina 1-fosfato. Implicaciones en la regulación de la respuesta inmune.**

Duración del Proyecto: 2006-2008 (3 años)

Entidad que financia el Proyecto: M<sup>o</sup> Educación y Ciencia (SAF2006-08031)

Presupuesto del Proyecto: 133.100 €

Investigador Principal: Dra. Carmen García Rodríguez

**La hipótesis lipídica de la esquizofrenia: una nueva aproximación terapéutica. Inhibidores de la fosfolipasa A2 independiente de calcio: síntesis, inhibición enzimática y transducción de la señal.**

Duración del Proyecto:

Entidad que financia el Proyecto: Fundació la Marató (2002208)

Presupuesto del Proyecto:

Investigador Principal: Dr. Jesús Balsinde Rodríguez

**Laboratorio de pediatría-inmunología**

Duración del Proyecto: Infraestructura (FEDER)

Entidad que financia el Proyecto: M<sup>o</sup> Ciencia y Tecnología (UNVA-E014)

Presupuesto del Proyecto: 150.000 €

Investigador Principal: Dr. Alfredo Blanco Quirós

**Estrategias de inhibición de las respuestas inmune innata y adquirida frente al gluten en un modelo de cultivo d biopsia intestinal con péptidos sintéticos.**

Duración del Proyecto:

Entidad que financia el Proyecto: Junta de Castilla y León (VA089A06)

Presupuesto del Proyecto: 13.200 €

Investigador Principal: Dr. Eduardo Arranz Sanz

**Involvement of secretory phospholipase II in atherosclerosis: receptor mediated signalling and role of small GTPases**

Duración del Proyecto:

Entidad que financia el Proyecto: Unión Europea (Marie Curie MERG-CT-2004-50344).

Presupuesto del Proyecto: 40.000 €

Investigador Principal: Dra. M<sup>a</sup> Luisa Nieto Callejo /Dra. Marita Hernández

**Mecanismos de transducción de señal implicados en la activación de células proinflamatorias.**

Duración del Proyecto:

Entidad que financia el Proyecto: Junta de Castilla y León (CSI4/02)

Presupuesto del Proyecto:

Investigador Principal: Dr. Jesús Balsinde Rodríguez

**Polimorfismos genéticos y respuesta a inhibidores del receptor de leucotrienos en niños asmáticos. Estudio de correlación clínica y funcional.**

Duración del Proyecto: 2006-2008 (3 años)

Entidad que financia el Proyecto: Fondo de Investigaciones Sanitarias (PI05/1746)

Presupuesto del Proyecto:

Investigador Principal: Dr. Juan José Tellería Orriols

**Fallo ovárico prematuro y portadoras premutadas del síndrome X frágil: búsqueda de anomalías crípticas (sobre todo deleciones submicroscópicas) en la región Xq27-xqter, para averiguar la relación entre estas dos patologías**

Duración del Proyecto: 2006-2008 (3 años)

Entidad que financia el Proyecto: Fondo de Investigaciones Sanitarias (PI05/1552)

Presupuesto del Proyecto:

Investigador Principal: Dra. Isabel Tejada

**Estudio de la función de la apolipoproteína D en el balance supervivencia - muerte celular en el sistema nervioso**

Duración del Proyecto: 2006-2008 (3 años)

Entidad que financia el Proyecto: M<sup>o</sup> Educación y Ciencia (BFU2005-00522)

Presupuesto del Proyecto: 152.320 €

Investigador Principal: Dra. M<sup>a</sup> Dolores Ganfornina

**Modulación de NFAT por salicilatos y derivados. Sinergia con el inmunosupresor ciclosporina A, actividad antiinflamatoria y mecanismo de acción.**

Duración del Proyecto: 2005-2008

Entidad que financia el Proyecto: Fundación Médica de la Mutua Madrileña

Presupuesto del Proyecto: 45.000 €

Investigador Principal: M<sup>a</sup> Carmen García Rodríguez

**Calcio y función celular**

Duración del Proyecto: 2007-2010 (3 años)

Entidad que financia el proyecto: Ministerio de Educación y Ciencia (BFU2007-60157)

Presupuesto del proyecto: 335.170 €

Investigador Principal: Javier García-Sancho Martín

**Búsqueda de un sensor de oxígeno en las células quimiorreceptoras, musculares lisas de vasos pulmonares y adrenomedulares**

Duración del proyecto: 2007-2012 (5 años)

Entidad que financia el proyecto: Ministerio de Educación y Ciencia (BFU2007-61848)

Presupuesto del proyecto: 895.400 €

Investigador principal: Constancio González Martínez

**Caracterización del remodelado eléctrico de las células del músculo liso vascular en un modelo animal de hipertensión esencial**

Duración del proyecto: 2007-2010 (3 años)

Entidad que financia el proyecto: Ministerio de Educación y Ciencia (BFU2007-61524)

Presupuesto del proyecto: 312.180 €

Investigador principal: José Ramón López López

### **Mecanismos de plasticidad de la señalización por calcio a nivel subcelular**

Duración del proyecto: 2005-2008 (3 años)

Entidad que financia el proyecto: Ministerio de Educación y Ciencia (BFU2005-05464)

Presupuesto del proyecto: 140.420 €

Investigador principal: Javier Alvarez Martín

### **Efecto de polifenoles vínicos en cultivos celulares y animales de laboratorio**

Duración del proyecto: 2007-2008

Entidad que financia el proyecto: Fundación Centro Tecnológico Cereales de Castilla y León

Presupuesto del proyecto: 13.000 €

Investigador principal: Javier Alvarez Martín

Proyecto Junta de Castilla y León

#### **VA088A06**

Duración del proyecto: 2006-2008

Entidad que financia el proyecto: Consejería de Educación. Junta de Castilla y León.

Presupuesto del proyecto:

Investigador principal: M. Teresa Alonso Alonso

### **La hipótesis del calcio en la Enfermedad de Alzheimer: papel del calcio mitocondrial en el daño neuronal y en la neuroprotección inducida por AINEs.**

Duración del proyecto: 2008-2010

Entidad que financia el proyecto: Instituto de Salud Carlos III (PIO70766)

Presupuesto del proyecto: 118.500 €

Investigador principal: Lucía Nuñez Llorente

### **Identificación de Mutaciones en Genes de Predisposición al Síndrome Hereditario de Cáncer de Mama y Ovario**

(Convenio de colaboración entre la Junta de Castilla y León, a través de la Consejería de Sanidad, la Fundación de Investigación del Cáncer de la Universidad de Salamanca y la Universidad de Valladolid)

Duración del proyecto: 2008

Entidad que financia el proyecto: Consejería de Sanidad. Junta de Castilla y León.

Presupuesto del proyecto: 165.000 €

Investigador principal: Cristina Miner Pino

### **Estudio Genético del Cáncer Hereditario**

(Convenio de colaboración entre la Junta de Castilla y León, a través de la Consejería de Sanidad y la Universidad de Valladolid)

Duración del proyecto: 2008

Entidad que financia el proyecto: Consejería de Sanidad. Junta de Castilla y León

Presupuesto del proyecto: 68.096 €

Investigador principal: Cristina Miner Pino

### **Redes Temáticas de Investigación Cooperativa en Salud (Red de Terapia Celular)**

Duración del proyecto: 2007-2009

Entidad que financia el proyecto: Instituto de Salud Carlos III (RETICS 2006 RD06/0010/0000)

Presupuesto inicial: 438.000 € (1<sup>er</sup> y 2<sup>o</sup> año)

Investigador principal: Javier García-Sancho Martín

### **Redes Temáticas de Investigación Cooperativa en Salud (Red Heracles)**

Duración del proyecto: 2007-2009

Entidad que financia el proyecto: Instituto de Salud Carlos III (RETICS 2006 RD06/0010/0013)

Presupuesto inicial: 126.700 € (1<sup>er</sup> y 2<sup>o</sup> año)

Investigador principal: José Ramón López López



## **h) Procesos administrativos**

### **1. Acceso a los estudios de tercer ciclo**

#### **Admisión**

El aspirante a realizar los estudios de doctorado regulados por el R.D. 778/1998, tendrá que estar en posesión del título universitario oficial de Licenciado, Arquitecto o Ingeniero, o de un título equivalente u homologado a alguno de ellos.

También podrán acceder los aspirantes que estén en posesión de un título superior extranjero no homologado, de nivel de licenciado o equivalente, obtenido en una universidad o centro de enseñanza superior extranjero, previa admisión por el Rector de la Universidad

Los interesados en cursar un determinado Programa de Doctorado deberán realizar la preinscripción durante el mes de septiembre en el departamento correspondiente. Para ello presentarán el impreso Solicitud de inscripción, y la documentación exigida en cada caso por el departamento responsable de la organización del programa.

Los departamentos harán pública, antes del quince de octubre, la relación de aspirantes admitidos. Los aspirantes no admitidos podrán presentar reclamaciones de acuerdo a lo establecido en el art. 9.4 de las Normas Regulatoras de Tercer Ciclo.

Una vez realizada la selección del alumnado, el departamento extenderá a cada alumno un impreso de Autorización de Matrícula, que será imprescindible para formalizar la matrícula.

- [Autorizaciones de Matrícula](#)
- [Solicitud de inscripción](#)

#### **Alumnos con titulación extranjera no homologada**

##### **Admisión por el Rector**

El aspirante a cursar un programa de doctorado tendrá que ser admitido previamente por el Rector quien, previa comprobación de que el título extranjero presentado corresponde al nivel de Licenciado, Arquitecto o Ingeniero, resolverá con carácter previo sobre la posibilidad de acceso a los estudios correspondientes.

Para iniciar el proceso, el aspirante presentará en la Sección de Tercer Ciclo de la Universidad de Valladolid (Dirección postal: Sección de Tercer Ciclo. Casa del Estudiante. C/ Real de Burgos s/n. 47011 Valladolid. España) la Solicitud de acceso, acompañada de la documentación que en ella se indica.

La documentación deberá estar legalizada por vía diplomática. Todos los documentos expedidos en idioma extranjero deberán acompañarse de su traducción oficial al español.

- [Solicitud de Acceso](#)
- [Legalización por vía diplomática](#)
- [Traducción oficial](#)

#### **Admisión en el Programa de Doctorado**

Admitida la solicitud por el Rector, el interesado tramitará la admisión a los programas de Doctorado en el departamento correspondiente.

#### **Matrícula**

Una vez admitido en el Programa de Doctorado, el interesado efectuará la matrícula.

## 2. Matrícula

### Plazo y Requisitos

La matrícula se realizará de forma centralizada del 5 al 14 de noviembre de 2007 en la Sección de Tercer Ciclo.

Los alumnos con titulación extranjera no homologada que se matriculen por primera vez en doctorado, efectuarán su matrícula del 15 al 23 de noviembre de 2007.

Para formalizar la matrícula el alumno deberá presentar:

- ▣ Autorización de matrícula: Se recogerá en el departamento correspondiente. Estará firmada por el Director del departamento y por el tutor del alumno, especificando claramente los cursos o seminarios elegidos.
- ▣ Fotocopia del título de Licenciado, Ingeniero o Arquitecto, o del resguardo de haberlo solicitado. Los alumnos licenciados por otras universidades presentarán original del título y fotocopia para su cotejo en la Sección.
- ▣ Fotocopia del D.N.I. o pasaporte.
- ▣ Sobre de matrícula: Se recogerá en la Conserjería de la Casa del Estudiante. Contiene:
  - Instrucciones de matrícula
  - Impreso de datos estadísticos
  - Solicitud de tarjeta de estudiante

Los alumnos que decidan realizar cursos fuera de su programa (máximo 5 créditos de los 20 exigidos en el periodo de docencia. Art. 6 del R.D. 778/98, de 30 de abril) deberán aportar, en el momento de la matrícula, además de la "Autorización de Matrícula" de su departamento, la correspondiente al departamento donde haya decidido realizar los cursos fuera de programa. Esta última deberá estar firmada por el director de este departamento y por el tutor del alumno en su departamento de origen.

### Convalidaciones

Los alumnos pueden realizar hasta 5 créditos del periodo de docencia fuera de su programa de doctorado. Existen varias maneras de conseguirlos:

1. En el caso de que quieran conseguir estos créditos realizando cursos de otro programa de doctorado deberán aportar, en el momento de la matrícula además de la "Autorización de Matrícula" de su programa principal, la autorización correspondiente al programa donde hayan decidido realizar estos cursos. Las autorizaciones llevarán la firma del tutor asignado al alumno y de los directores de departamento.
2. Un doctorando que haya realizado cursos ajenos a su programa de doctorado (másteres, cursos de posgrado y otros cursos de nivel similar), podrán solicitar ante su departamento, la convalidación por ellos de un máximo de 5 créditos correspondientes al periodo de docencia. El departamento será el encargado de comunicar su acuerdo a la Comisión de Doctorado. Será desde la Sección de Tercer Ciclo desde donde se matriculará al interesado en dichos créditos y se le remitirá un recibo por el importe de los mismos, para que haga el abono correspondiente. El plazo está abierto durante todo el curso académico.

Otro tipo de convalidaciones son los cambios de programa de doctorado, que pueden ser:

Si quiere cambiar de programa dentro de esta Universidad, deberá obtener el visto bueno de ambos departamentos. Para ello necesitará el Modelo III de Reconocimiento de Programa (Modelo

III). Este impreso está dirigido a la Comisión de Doctorado y se presentará en la Sección de Tercer Ciclo. El plazo está abierto durante todo el curso académico.

Si quiere cambiar desde un programa de fuera de la UVA deberá hacer una solicitud al departamento de la Universidad de Valladolid donde va a continuar sus estudios, rellenando el impreso correspondiente (Modelo I). El departamento receptor informará a la Comisión de Doctorado de los créditos que reconoce. Para ello tendrá que rellenar el impreso necesario (Modelo II). En caso de que el alumno tenga el Certificado de Docencia o el Certificado de Estudios Avanzados, adjuntará copia del certificado que corresponda a su solicitud. El plazo está abierto durante todo el curso académico.

- [Modelo I \(doc\)](#)
- [Modelo II \(doc\)](#)
- [Modelo III](#)

### **Autorizaciones**

- [Autorizaciones de Matrícula](#)

### **Tarifas**

- [Precios Públicos Doctorado](#)

### **Datos Generales del Programa**

TÍTULO: **BIOTECNOLOGÍA: APLICACIONES BIOMÉDICAS** CÓDIGO: **M35**

MENCIÓN DE CALIDAD: **Concedida hasta 2010-2011**

DEPARTAMENTO/S: **BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR Y FISIOLOGÍA (006)**

**INSTITUTO UNIVERSITARIO DE BIOLOGIA Y GENETICA MOLECULAR (429)**

ÁREAS DE CONOCIMIENTO: **BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR (60)**  
**FISIOLOGÍA (410)**

Nº MÁXIMO ALUMNOS: **20** Nº MÍNIMO ALUMNOS: **10**

COORDINADOR: **JAVIER ALVAREZ MARTIN**

TFNO. CONTACTO: **983423000 Ext. 4118**

CORREO ELECTRÓNICO: **jalvarez@ibgm.uva.es**

Personal administrativo: **Josefina Revuelta Crespo**

Tfno. contacto: **983423085** Fax: **983423588**

correo electrónico: **dpto.bioq@uva.es**

SEDE/S: **Valladolid** INTERUNIVERSITARIO: **N**

CRITERIOS: **LICENCIADOS O INGENIEROS**

## **i) Procedimientos de Garantía de Calidad y formulación de reclamaciones sobre el Programa por parte de los estudiantes.**

La Comisión de Doctorado del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Fisiología es el órgano creado por acuerdo del Consejo de Departamento para el seguimiento del programa y la garantía de la calidad del mismo. Esta Comisión está presidida por el Coordinador del Programa e integrada por los responsables de los cursos teóricos incluidos en el Programa. Sus funciones incluyen, entre otras, las siguientes:

- a) Admisión de los alumnos al Programa.
- b) Asignación de Tutor a cada alumno admitido al Programa.
- c) Establecer un archivo en el que se recojan todos los documentos generados en el Programa.
- d) Realizar anualmente un Informe de Autoevaluación del Programa en base a los informes emitidos por los responsables de cada curso.
- e) Proponer las modificaciones que considere oportunas de cara a la mejora del Programa.
- f) Tomar decisiones en relación con sugerencias o reclamaciones tanto de los profesores como de los estudiantes del Programa.
- g) Realizar un seguimiento de las tasas de demanda, absentismo, abandono, continuidad, éxito y rendimiento de los estudiantes.
- h) Establecer procedimientos que permitan recoger y atender, en su caso, las sugerencias y reclamaciones de los estudiantes respecto a la calidad de los estudios, la docencia recibida, las instalaciones y servicios, etc. En particular, la realización de encuestas de satisfacción y opinión de los implicados en el Programa de Doctorado.
- i) Establecer procedimientos que realicen un seguimiento de los titulados y comprobar así la adecuación de la formación adquirida.
- j) Establecer criterios para interrumpir la impartición del título, con carácter temporal o definitivo, y mecanismos previstos para salvaguardar los derechos y compromisos adquiridos con los estudiantes.

2. Mecanismos de supervisión del programa. La supervisión y evaluación interna del programa de doctorado se establece a través de la realización, con periodicidad anual, de una autoevaluación que se realizará de forma interna en cada curso del programa y también de forma general por parte de la Comisión de Doctorado del Departamento. Esta autoevaluación tiene por tanto dos fases. En la primera, los profesores responsables de cada curso se reúnen al finalizar el mismo para realizar una evaluación del desarrollo del curso teniendo en cuenta la opinión de los estudiantes expresada mediante una serie de encuestas que se realizan conjuntamente con la prueba de evaluación. A partir de esta primera evaluación se genera un informe que debe recoger al menos los siguientes aspectos del programa:

- a) Criterios y procedimientos de actualización y mejora del programa del curso en base al perfil formativo que se desea y a los resultados académicos de los estudiantes. Análisis de fortalezas y debilidades y propuestas de mejora.
- b) Criterios y procedimientos para garantizar la calidad de las prácticas en el caso de los cursos prácticos
- c) Procedimientos de atención de las sugerencias/reclamaciones de los estudiantes y grado de satisfacción de los mismos con el desarrollo del curso
- d) Autoevaluación del profesorado. En la segunda fase, los informes generados por cada uno de los cursos son analizados por la Comisión de Doctorado, que debe realizar un informe general de mejora de la calidad del Programa que enumere los puntos fuertes y débiles, y haga las correspondientes propuestas de mejora con respecto a los siguientes puntos:
  - a) Evaluación de los procedimientos de control de calidad de cada curso y propuestas de mejora de los mismos.
  - b) Evaluación de la actividad del profesorado en cada curso.
  - c) Evaluación de las propuestas de actualización y mejora del programa realizadas por los responsables de los cursos.

d) Evaluación de la calidad de los cursos prácticos en base a las encuestas de los alumnos y los informes de los cursos, y propuestas de mejora.

e) Análisis de la inserción laboral de los alumnos que obtienen el DEA y de la satisfacción con la formación recibida.

f) Evaluación de los procedimientos de atención de las sugerencias y reclamaciones de los estudiantes.

g) Finalmente, propuesta de modificación del Programa de Doctorado para el curso siguiente en base a lo anterior. Tras esa propuesta, se abre un trámite de sugerencias y alegaciones para todos los profesores y alumnos del mismo, tras el cual se reúne de nuevo la Comisión y redacta el Programa con las modificaciones definitivas para el curso siguiente.

3. Sistemas de apoyo al aprendizaje autónomo del estudiante. Desde el momento que se admite un estudiante al Programa de Doctorado se le asigna un Tutor que le va seguir durante todo el Programa de Doctorado, aconsejándole sobre los cursos en los que debe matricularse y resolviendo las dudas y problemas que le puedan surgir a lo largo de todo ese periodo. Dado que la mayor parte de nuestros estudiantes se incorpora desde el primer momento a una línea de investigación, con frecuencia el Tutor asignado coincide con uno de los directores de dicha línea de investigación en la que el nuevo estudiante planea realizar su Tesis Doctoral. De esta manera, el contacto con el Tutor es mucho más estrecho y esto permite al Tutor orientar al alumno con un mayor conocimiento de causa. Asimismo, en estas condiciones el Tutor está mucho más capacitado para orientar al alumno sobre su futuro profesional, que en la mayor parte de los casos, para nuestros alumnos, pasa por una estancia postdoctoral en un laboratorio extranjero. Dentro de su labor de supervisión del desarrollo del Programa de Doctorado, la Comisión de Doctorado deberá velar de forma específica por los siguientes aspectos del aprendizaje:

a) El adecuado cumplimiento de la acción tutorial que, como se ha manifestado más arriba, debe ejercer un papel fundamental en el proceso formativo del estudiante en este Programa de Doctorado.

b) La adecuación de la metodología docente, favoreciendo la implantación de metodologías innovadoras y el trabajo cooperativo de distintos profesores dentro de una misma materia.

c) La optimización de la carga de trabajo del alumno y la adecuada planificación anual del proceso de enseñanza y evaluación.

#### 4. Sistema de información y comunicación pública del programa.

4.1. Vías de acceso a la información pública sobre el programa: El Programa está anunciado en la página web del IBGM: <http://www.ibgm.med.uva.es/> y en la página web dedicada a doctorado de la Universidad de Valladolid <http://www.uva.es/> (Oferta educativa/Programas de Tercer Ciclo) Aparte de esto, el Programa está anunciado en los tablones de anuncios de la Facultad de Medicina y del IBGM. Los solicitantes reciben información sobre las líneas de investigación del Instituto, las posibilidades de realizar la Tesis Doctoral, las posibilidades de obtener una beca con esa finalidad y la relación de profesores e investigadores y sus líneas de investigación prioritarias. El Programa está abierto a estudiantes poseedores de un Grado de Licenciatura en general. La mayor parte de nuestros alumnos proceden de Facultades de Ciencias Biológicas o Licenciados en Bioquímica, Farmacia, Medicina o Veterinaria, aunque ocasionalmente también tenemos estudiantes con Licenciaturas en Ciencias Químicas o Físicas. La preinscripción al Programa se realiza en el mes de Septiembre y, una vez que los estudiantes han sido aceptados y se les ha asignado un tutor, realizan la matrícula en el mes de Noviembre a lo largo del periodo que designa la Universidad.

4.2. Vías de acceso a información interna de los estudiantes. El IBGM dispone de una red informática interna a la que tienen acceso todos los estudiantes. En ella hay un directorio específico para el Programa de Doctorado en el que se depositan contenidos docentes de los distintos cursos.