

Universidad Autónoma de Baja California
 Coordinación General de Investigación y Posgrado



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
COORDINACIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
PROGRAMA DE UNIDAD DE APRENDIZAJE

Datos de identificación

Unidad académica: Facultad de Ciencias Marinas e Instituto de Investigaciones Oceanológicas

Programa: Doctorado en Ciencias en Oceanografía Costera

Plan de estudios: 2021-1

Nombre de la unidad de aprendizaje: Análisis de Expresión Génica en qPCR Tiempo Real

Clave de la unidad de aprendizaje:

Tipo de unidad de aprendizaje: Optativa

Horas clase (HC):

2

Horas prácticas de campo (HPC):

0

Horas taller (HT):

2

Horas clínicas (HCL):

0

Horas laboratorio (HL):

0

Horas extra clase (HE):

2

Créditos (CR): 6

Requisitos:

Perfil de egreso del programa

El egresado del Programa de Doctorado en Ciencias en Oceanografía Costera, tendrá una formación que le permita desarrollar una línea de investigación en las ciencias del mar de manera original e independiente con alta capacidad técnica y metodológica. Su formación le permitirá contribuir al avance del conocimiento científico y la solución de problemas emergentes del medio ambiente marino. El egresado del Programa de Doctorado en Ciencias en Oceanografía Costera será capaz de:

Evaluar el comportamiento integral de las condiciones oceanográficas y climatológicas, mediante la aplicación profesional del método científico incluyendo el trabajo interdisciplinario y multidisciplinario, así como su análisis crítico, para la implementación de estrategias innovadoras que resuelvan problemáticas emergentes regionales y globales para el aprovechamiento y protección del medio ambiente marino, con honestidad, responsabilidad social y respeto al medio ambiente.

Evaluar los efectos de las variaciones físicas y climatológicas en las variables químico-biológicas que ocurren en el océano, mediante la generación y aplicación de metodologías y técnicas multidisciplinarias de análisis biogeoquímicos, para la implementación de acciones innovadoras e integrales de mitigación que permitan la protección y uso sostenible de los recursos naturales marinos, con una actitud propositiva e innovadora y de responsabilidad social y respeto al medio ambiente.

Evaluar los componentes biológicos de un ecosistema, su relación y adaptación a las variables fisicoquímicas del ambiente y sus variaciones antrópicas, mediante la participación en equipos interdisciplinarios y multidisciplinarios, así como la generación de herramientas biotecnológicas innovadoras, para contribuir a la implementación de medidas de conservación y manejo de los recursos marinos fundamentadas en el valor de los bienes y servicios ambientales que brindan a los ecosistemas, con una actitud propositiva e innovadora y de responsabilidad social y respeto al medio ambiente.

Definiciones generales de la unidad de aprendizaje

Propósito general de esta unidad de aprendizaje:

La unidad de aprendizaje Análisis de Expresión Génica en qPCR Tiempo Real tiene como propósito capacitar a los estudiantes de posgrado en Ciencias en Oceanografía Costera en el uso de herramientas genómicas para analizar la expresión de genes relacionados con diferentes procesos biológicos en

Universidad Autónoma de Baja California
 Coordinación General de Investigación y Posgrado

	organismos acuáticos. Para ello, se examinarán las bases teóricas de esta técnica, sus aplicaciones, el análisis de resultados y su interpretación. Además de introducir a los alumnos a la aplicación de las nuevas herramientas de biología molecular para el estudio de genes asociadas a organismos de importancia acuícola.
Competencia de la unidad de aprendizaje:	Analizar la expresión de genes asociados a diversos procesos biológicos de organismos acuáticos, mediante el uso de qPCR en tiempo real, para identificar las respuestas fisiológicas a nivel molecular, con una actitud propositiva, innovadora y de compromiso con el medio ambiente.
Evidencia de aprendizaje (desempeño o producto a evaluar) de la unidad de aprendizaje:	Proyecto final donde integren un análisis de expresión de genes con datos reales.

Temario	
I. Nombre de la unidad: Introducción a la genómica funcional	Horas: 6
Competencia de la unidad: Examinar el concepto de genómica funcional, mediante la revisión de bibliografía especializada en el tema, para explicar la importancia de la regulación génica en organismo marinos, con dedicación y empeño.	
Tema y subtemas:	
1.1. Principios de genómica 1.1.1. Conceptos básicos 1.1.2. Genómica comparativa 1.1.3. Genómica estructural 1.1.4. Genómica funcional 1.1.5. Aplicaciones de la genómica en la acuicultura	
Prácticas (taller):	Horas: 2
1. Taller de discusión de artículos sobre aplicaciones de la genómica en la acuicultura.	

II. Nombre de la unidad: Introducción al análisis de expresión de genes	Horas: 8
Competencia de la unidad: Examinar los fundamentos de las principales técnicas utilizadas para la cuantificación de la expresión génica, mediante el análisis de las metodologías y herramientas ómicas de nueva generación, para conocer las peculiaridades de estas técnicas durante su aplicación, con responsabilidad y perseverancia.	
Tema y subtemas:	
2.1. Principios de la expresión de genes 2.1.1. Conceptos básicos 2.1.2. Tipos de análisis de expresión génica (cuantitativo y cualitativo)	
2.2. PCR en tiempo real 2.2.1. Fundamentos 2.2.2. Componentes de la reacción	

Universidad Autónoma de Baja California
 Coordinación General de Investigación y Posgrado

<p>2.2.3. Sistemas de fluorescencia</p> <p>2.2.4. Tipos de cuantificación (relativa y absoluta)</p>	
<p>Prácticas (taller):</p> <p>1. Taller de discusión de artículos de diversas técnicas utilizadas en el estudio de la expresión génica de organismos marinos.</p>	<p>Horas: 2</p>

<p>III. Nombre de la unidad: Análisis de cuantificación absoluta en PCR tiempo real</p>		<p>Horas: 8</p>
<p>Competencia de la unidad: Examinar los fundamentos de la cuantificación de la expresión absoluta de genes, mediante el análisis de los protocolos, para su optimización y validación, con compromiso y responsabilidad.</p>		
<p>Tema y subtemas:</p> <p>3.1. Cuantificación absoluta.</p> <p style="padding-left: 20px;">3.1.1. Conceptos básicos</p> <p style="padding-left: 20px;">3.1.2. Validación de primers (Especificidad y eficiencia)</p> <p style="padding-left: 20px;">3.1.2. Diluciones seriales y curva estándar</p> <p style="padding-left: 20px;">3.1.3. Determinación del límite de detección y número de copias</p> <p style="padding-left: 20px;">3.1.4. Análisis de datos</p>		
<p>Prácticas (taller):</p> <p>1. Taller de discusión de artículos del uso y pertinencia del enfoque de cuantificación absoluta en el estudio de la expresión génica de organismos marinos.</p>	<p>Horas: 4</p>	

<p>IV. Nombre de la unidad: Cuantificación relativa de la expresión mediante PCR en tiempo real</p>		<p>Horas: 10</p>
<p>Competencia de la unidad: Examinar los fundamentos de la cuantificación de la expresión relativa de genes, mediante el uso de controles endógenos y el análisis de los protocolos, para su optimización y validación, con compromiso y responsabilidad.</p>		
<p>Tema y subtemas:</p> <p>4.1. Introducción a la expresión relativa</p> <p style="padding-left: 20px;">4.1.1. Conceptos básicos</p> <p>4.2. Estandarización de genes blanco y de referencia</p> <p style="padding-left: 20px;">4.2.1. Gradientes térmicos</p> <p style="padding-left: 20px;">4.2.3. Gradientes de concentración</p> <p style="padding-left: 20px;">4.2.3. Análisis de curvas de disociación</p> <p>4.3. Curva estándar</p> <p style="padding-left: 20px;">4.3.1. Diluciones seriadas</p> <p style="padding-left: 20px;">4.3.2. Eficiencia de reacción</p> <p>4.4. Diseño de placas</p> <p style="padding-left: 20px;">4.4.1. Tipos de maximización de placas</p>		

4.5. Métodos de validación de genes de referencia

4.5.1. GeNorm

4.5.2. Normfinder

4.5.3. Bestkeeper

4.6. Métodos de cuantificación de la expresión relativa

4.6.1. Livak y Schmittgen, Pfaffl y Hellemans.

Prácticas (taller):

Horas: 24

1. Taller práctico de búsquedas de genes de interés en bases de datos (NCBI), manejo de secuencias, análisis de homología (Blastx, Blastp), alineamientos de secuencias y diseño de primers (Primer 3).
2. Taller práctico de diseño de placas en programa CFX Manager.
3. Taller práctico de validación de genes de referencia a partir de datos reales.
4. Taller práctico de análisis de datos de expresión relativa de genes a partir de datos reales.
5. Taller práctico de preparación de placas para análisis cuantitativo en PCR tiempo real.

Estrategias de aprendizaje utilizadas:

Actividades de aprendizaje basadas en TICs, para lograr un conocimiento integral a partir de las actividades realizadas dentro y fuera del salón de clases en teoría y de taller de la unidad de aprendizaje Análisis de Expresión Génica en qPCR Tiempo Real.

En el taller se realizarán ejercicios prácticos para adquirir las capacidades básicas de análisis e interpretación de la regulación génica en organismos acuáticos.

Criterios de evaluación:

4 Exámenes: 40%
 Talleres: 30%
 Proyecto final: 30%
 Total: 100%

Criterios de acreditación:

- El estudiante debe cumplir con lo estipulado en el Estatuto Escolar vigente u otra normatividad aplicable.
- Calificación en escala de 0 al 100, con un mínimo aprobatorio de 70.

Bibliografía:

- Dorak, M. T. (2007). *Real-time PCR*. London: Taylor & Francis. [clásico]
- Hart, D.L. (2020). *Essential genetics and genomics (7a. ed.)*. Burlington: Jones & Bartlett Learning. [clásico]
- Adams, G. (2020). A beginner's guide to RT-PCR, qPCR and RT-qPCR. *The Biochemist*, 42(3), 48-53. <https://doi.org/10.1042/BIO20200034>
- De Spiegelaere, W., Dern-Wieloch, J., Weigel, R., Schumacher, V., Schorle, H., Nettersheim, D., Bergmann, M., Brehm, R., Kliesch, S., Vandekerckhove, L. & Fink, C. (2015). Reference gene

validation for RT-qPCR, a note on different available software packages. *PLoS one*, 10(3), e0122515. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122515>

Debode, F., Marien, A., Janssen, É., Bragard, C. & Berben, G. (2017). The influence of amplicon length on real-time PCR results. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 21(1), 3-11. <https://doi.org/10.25518/1780-4507.13461>

Hellemans, J., Mortier, G., De Paepe, A., Speleman, F. & Vandesompele, J. (2007). qBase relative quantification framework and software for management and automated analysis of real-time quantitative PCR data. *Genome biology*, 8(2), 1-14. <https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-2-r19>

Kőressaar, T., Lepamets, M., Kaplinski, L., Raime, K., Andreson, R. & Remm, M. (2018). Primer3_masker: integrating masking of template sequence with primer design software. *Bioinformatics*, 34(11), 1937-1938. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty036>

Kralik, P. & Ricchi, M. (2017). A basic guide to real time PCR in microbial diagnostics: definitions, parameters, and everything. *Frontiers in microbiology*, 8, 108. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00108>

Livak, K.J. & Schmittgen, T.D. (2001). Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method. *Methods*, 25, 402-408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>

MacKenzie, S. A. & Jentoft, S. (eds.). (2016). *Genomics in aquaculture*. Academic Press, London.

Navarro, E., Serrano-Heras, G., Castaño, M. J. & Solera, J. J. C. C. A. (2015). Real-time PCR detection chemistry. *Clinica chimica acta*, 439, 231-250. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.10.017>

Rocha, A. J., Monteiro-Júnior, J. E., Freire, J. E., Sousa, A. J. & Fonteles, C. S. (2015). Real time PCR: the use of reference genes and essential rules required to obtain normalisation data reliable to quantitative gene expression. *Journal of Molecular Biology Research*, 5(1), 45. <http://dx.doi.org/10.5539/jmbr.v5n1p45>

Rodríguez, A., Rodríguez, M., Córdoba, J. J. & Andrade, M. J. (2015). Design of primers and probes for quantitative real-time PCR methods. En Basu C. (eds.) PCR Primer Design (pp. 31-56). *Humana Press*. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2365-6_3

Segundo-Val, I. & Sanz-Lozano, C. S. (2016). Introduction to the Gene Expression Analysis. In: Isidoro García M. (eds.) Molecular Genetics of Asthma (pp. 29-43). *Humana Press*. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3652-6_3

Singh C. & Roy-Chowdhuri, S. (2016) Quantitative Real-Time PCR: Recent Advances. In: Luthra R., Singh R., & Patel K. (eds.), Clinical Applications of PCR (pp. 161-176). *Humana Press*. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3360-0_15

Svec, D., Tichopad, A., Novosadova, V., Pfaffl, M. W. & Kubista, M. (2015). How good is a PCR efficiency estimate: Recommendations for precise and robust qPCR efficiency assessments. *Biomolecular detection and quantification*, 3, 9-16. <https://doi.org/10.1016/j.bdq.2015.01.005>

Taylor, S. C., Nadeau, K., Abbasi, M., Lachance, C., Nguyen, M. & Fenrich, J. (2019). The ultimate qPCR experiment: producing publication quality, reproducible data the first time. *Trends in biotechnology*, 37(7), 761-774. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.12.002>

Taylor, S., Wakem, M., Dijkman, G., Alsarraj, M. & Nguyen, M. (2015). *A practical approach to RT-qPCR: Publishing data that conform to the MIQE guidelines*. Bio-Rad Laboratories Inc.

Thornton, B. & Basu, C. (2015). Rapid and simple method of qPCR primer design. In: Basu C. (eds) *PCR Primer Design* (pp. 173-179). *Humana Press*. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2365-6_13

Fecha de elaboración / actualización: Agosto, 2020.

Universidad Autónoma de Baja California
Coordinación General de Investigación y Posgrado

Perfil del profesor: Profesor con Doctorado en Biotecnología Marina o área afín a las unidades de Biología Molecular, con experiencia de al menos dos años de investigación en estas disciplinas.

Nombre(s) y firma(s) de quién(es) diseñó(aron) el Programa de Unidad de Aprendizaje:

Dra. Laura Liliana López Galindo
Profesor-Investigador de Tiempo Completo
IIO, CA de Biología y Cultivo de Moluscos

Dr. Ernesto Larios Soriano
Posdoctorado CONACYT de Tiempo Completo
FCM, Posgrado en Oceanografía Costera

Dr. Mario Alberto Galaviz Espinoza
Profesor-Investigador de Tiempo Completo
FCM, CA de Biotecnología Acuícola Animal

Nombre y firma de quién autorizó el Programa de Unidad de Aprendizaje:

Dra. Lus Mercedes López Acuña
Directora de la Facultad de Ciencias Marinas
Profesor-Investigador de Tiempo Completo
FCM, CA de Biotecnología Acuícola Animal

Dr. Alejandro Cabello Pasini
Director del Instituto de Investigaciones Oceanológicas
Investigador de Tiempo Completo
IIO, CA de Botánica Marina

Nombre(s) y firma(s) de quién(es) evaluó/revisó(evaluaron/ revisaron) de manera colegiada el Programa de Unidad de Aprendizaje:

Dra. Ivone Giffard Mena
Profesora- Investigador de Tiempo Completo
FCM, CA de Recursos Genéticos Acuáticos

Dra. Claudia Ventura López
Posdoctorado CONACYT de Tiempo Completo
CICESE, Posgrado en Biotecnología Marina