



Grado en Biotecnología 27121 - Ingeniería genética

Guía docente para el curso 2015 - 2016

Curso: 3, Semestre: 2, Créditos: 6.0

Información básica

Profesores

- **José Antonio Aínsa Claver** ainsa@unizar.es
- **Jesús Ángel Gonzalo Asensio** jagonzal@unizar.es
- **Carlos Martín Montañés** carlos@unizar.es
- **Irene Pérez Sánchez** 611044@unizar.es
- **María Francisca Fillat Castejón** fillat@unizar.es
- **Esther Broset Blasco** ebroset@unizar.es

Recomendaciones para cursar esta asignatura

Para matricularse en la asignatura se recomienda haber cursado previamente Biología, Genética, Bioquímica, Química Orgánica, Microbiología y Biología Molecular.

Se recomienda asistir a las clases teóricas con asiduidad y asimilar los contenidos de forma progresiva, asistir a las sesiones prácticas, participar en las clases de problemas y frecuentar las tutorías con los profesores responsables de la asignatura

Actividades y fechas clave de la asignatura

La asignatura consta de clases magistrales participativas, prácticas de laboratorio, clases de problemas y seminarios, que se llevarán a cabo durante el segundo cuatrimestre del calendario académico.

El horario de clases teóricas y de exámenes se puede consultar en la página web de la Facultad de Ciencias:
<http://ciencias.unizar.es/web/horarios.do>

Las fechas y horarios de las prácticas de laboratorio se anunciarán oportunamente en el aula, en el tablón de anuncios del Grado en Biotecnología y en el ADD.

La entrega de trabajos tendrá como fecha límite el 30 de mayo.

Inicio

Resultados de aprendizaje que definen la asignatura

El estudiante, para superar esta asignatura, deberá demostrar los siguientes resultados...

- 1:** Realización de manipulaciones sencillas de ingeniería genética.
- 2:** Diseño del procedimiento más adecuado para elaborar una genoteca y seleccionar el gen de interés.
- 3:** Conocimiento de los métodos de transferencia génica en microorganismos, plantas y animales.
- 4:** Conocimiento y uso de los métodos de análisis funcional del gen.
- 5:** Conocimiento de las bases de la producción de proteínas recombinantes y la alteración de la información génica.
- 6:** Búsqueda y análisis de información específica relacionada con la asignatura
- 7:** Elaboración y presentación oral de informes

Introducción

Breve presentación de la asignatura

Esta asignatura de tercer curso de la titulación de Graduado/a en Biotecnología, se basa en los conocimientos adquiridos en asignaturas previamente cursadas para presentar a los alumnos los fundamentos, las herramientas, las técnicas y las aplicaciones de la manipulación genética de seres vivos (microorganismos, animales y plantas).

Por esto, resulta una asignatura crucial en esta titulación, ya que proporciona el punto de partida para abordar asignaturas con marcado carácter biotecnológico (Biotecnología animal, vegetal, microbiana, medio ambiente, clínica, etc.) que se impartirán principalmente en el cuarto curso de esta titulación.

Contexto y competencias

Sentido, contexto, relevancia y objetivos generales de la asignatura

La asignatura y sus resultados previstos responden a los siguientes planteamientos y objetivos:

Se pretende que el alumno conozca las herramientas y técnicas más utilizadas en la Ingeniería genética y sea capaz de aplicarlas correctamente en células bacterianas, levaduras, vegetales y animales.

Contexto y sentido de la asignatura en la titulación

Asignatura obligatoria de 6 ECTS. Se enmarca en el módulo Fundamental del Grado y se imparte en el segundo cuatrimestre del 3º curso.

El uso de la Ingeniería genética es el punto de partida para la mayor parte de los procesos actuales relacionados con la Biotecnología, por lo que el conocimiento de las herramientas y técnicas en las que se basa esta disciplina y de sus aplicaciones es fundamental en esta titulación.

Al superar la asignatura, el estudiante será más competente para...

- 1:** Conocer las herramientas básicas de la ingeniería genética y sus aplicaciones.
- 2:** Utilizar los sistemas más comunes de modificación y transferencia génica en procariotas y entender su funcionamiento.
- 3:** Utilizar los sistemas más comunes de modificación y transferencia génica en células eucariotas y entender su funcionamiento.
- 4:** Diseñar sistemas de expresión del DNA recombinante y de caracterización de la expresión génica.
- 5:** Entender los métodos básicos de alteración de la información génica y del análisis funcional del gen.
- 6:** Diseñar y realizar operaciones sencillas de Ingeniería Genética en el laboratorio.

- 7:** Además, el alumno deberá mejorar:
 - 1) La capacidad de observación.
 - 2) La capacidad para resolver los problemas.
 - 3) El análisis crítico de la información.
 - 4) La síntesis e integración de la información.
 - 5) La presentación pública de temas para audiencias no especializadas

Importancia de los resultados de aprendizaje que se obtienen en la asignatura:

El aprendizaje de la asignatura permitirá al alumno llevar a cabo tareas esenciales para la formación de un biotecnólogo, como:

- Realización de manipulaciones sencillas de ingeniería genética.
- Diseño del procedimiento más adecuado para elaborar una genoteca y seleccionar el gen de interés.
- Conocimiento de los métodos de transferencia génica en microorganismos, plantas y animales.
- Conocimiento de las bases de la producción de proteínas recombinantes y la alteración de la información génica.
- Conocimiento y uso de los métodos de análisis funcional del gen.
- Búsqueda y análisis crítico de información relacionada con la asignatura.

- Elaboración y presentación oral de informes

Evaluación

Actividades de evaluación

El estudiante deberá demostrar que ha alcanzado los resultados de aprendizaje previstos mediante las siguientes actividades de evaluación

- 1:** Las competencias específicas se evaluarán mediante pruebas escritas consistentes en **cuestiones de tipo test y de ensayo**, que supondrán un 75% de la nota final. **Para aprobar la asignatura es necesario obtener un mínimo de 5 puntos sobre 10.**
 - 2:** La evaluación de las prácticas de laboratorio y de la elaboración y defensa de informes supondrá el 25% de la nota final.
 - 3:** Además de la modalidad de evaluación señalada en los puntos anteriores, el alumno podrá ser **evaluado en una prueba global**, que juzgará la consecución de los resultados del aprendizaje señalados anteriormente. **Para aprobar la asignatura es necesario obtener un mínimo de 5 puntos sobre 10 en la calificación de la prueba global.**
 - 4:** El temario que los estudiantes deben utilizar para preparar las diferentes pruebas se encuentra en el apartado "Actividades y recursos" de esta misma guía docente
-

Actividades y recursos

Presentación metodológica general

El proceso de aprendizaje que se ha diseñado para esta asignatura se basa en lo siguiente:

El proceso de aprendizaje que se ha diseñado para esta asignatura se basa en lo siguiente:

Actividad Formativa 1: Adquisición de conocimientos básicos de Ingeniería Genética (4 ECTS).

Metodología:

Clases magistrales participativas en grupo grande. El material de apoyo estará disponible en el ADD (<http://bb.unizar.es/>)

Tutorías individualizadas.

Actividad Formativa 2: Resolución de problemas y casos prácticos (0,5 ECTS).

Metodología:

Aprendizaje por resolución de problemas. El material de apoyo estará disponible en el ADD (<http://bb.unizar.es/>)

Tutorías individualizadas.

Actividad Formativa 3: Trabajo práctico en el laboratorio (1 ECTS).

Metodología:

Aprendizaje basado casos prácticos en grupos reducidos, de un máximo de 10-12 alumnos por profesor. El material de apoyo estará disponible en el ADD (<http://bb.unizar.es/>).

Trabajo en equipo e individual.

Actividad Formativa 4: Seminarios (0.5 ECTS).

Metodología:

Valoración de trabajos bibliográficos y/o **asistencia a conferencias de expertos invitados relacionadas con la temática de la asignatura**. El material de apoyo estará disponible en el ADD (<http://bb.unizar.es/>)

Discusión sobre los trabajos expuestos.

Trabajo en equipo e individual.

Actividades de aprendizaje programadas (Se incluye programa)

El programa que se ofrece al estudiante para ayudarle a lograr los resultados previstos comprende las siguientes actividades...

1:

Actividad Formativa 1: Adquisición de los conocimientos básicos de la materia (4 ECTS).

Metodología:

- Clases magistrales participativas, con arreglo al temario que se detalla a continuación:

I. HERRAMIENTAS Y TECNICAS BASICAS EN INGENIERIA GENETICA.

Tema 1.- Herramientas básicas en Ingeniería Genética. Sistemas de modificación restricción. DNA ligasas. Polinucleótido kinasa. Fosfatasa. Nucleasas. DNA y RNA polimerasas. Transcriptasa inversa. PoliA polimerasa. Transferasa terminal.

Tema 2.- Vectores de clonaje en sistemas procarióticos. Plásmidos bacterianos. Vectores derivados de plásmidos y sus características. Vectores lanzadera, vectores integrativos, vectores suicidas. Vectores de expresión. Vectores para clonaje de productos de PCR. BACs. Vectores derivados de los bacteriófagos lambda y M13. Empaquetamiento. Cósmidos.

Tema 3.- Aislamiento, purificación y análisis de ácidos nucleicos. Técnicas de extracción de DNA cromosómico. Aislamiento de plásmidos, cósmidos y fagos. Extracción de RNA. Electroforesis de ácidos nucleicos. Electroforesis de campo pulsado

Tema 4.- Hibridación de ácidos nucleicos. Fundamento fisico-químico de la hibridación. Factores que influyen en la interacción entre ácidos nucleicos. Técnicas de Southern y Northern. "Dot blot". Hibridación en colonia. Métodos para el marcaje de sondas. Métodos de detección de DNA y RNA hibridados. Aplicaciones.

Hibridación en macro y microarrays. Concepto de Biología de sistemas e importancia de la hibridación en su desarrollo.

Tema 5.- Amplificación génica por reacción en cadena de la polimerasa. Fundamentos. Diseño de iniciadores (*primers*) y síntesis de oligonucleótidos. Variantes de la PCR: PCR asimétrica, PCR reversa, RT-PCR, RACE, PCR anidada, PCR multiplex, PCR a tiempo real. Aplicaciones de la PCR

Tema 6.- Estrategias de clonaje. Construcción de genotecas. Transferencia génica en células procariontas. Selección de clones recombinantes. Métodos de caracterización del DNA recombinante. Mapeo de sitios de restricción. Subclonación. Localización de segmentos clonados en el genoma.

Tema 7.- Técnicas de secuenciación del DNA. Secuenciación química y secuenciación enzimática. Secuenciación cíclica. Secuenciación automática. Estrategias de secuenciación. **Técnicas de secuenciación de nueva generación: métodos de PCR en emulsión y de amplificación en fase sólida.** Proyectos de secuenciación de genomas.

Tema 8.- Mutagénesis dirigida: métodos y aplicaciones. Métodos de selección de hebra. Aplicaciones a la ingeniería de proteínas. Mutagénesis insercional mediada por transposones. Inactivación dirigida de genes por recombinación homóloga.

II. INGENIERIA GENETICA EN EUCARIOTAS

Tema 9.- Transferencia génica e ingeniería genética en levaduras. Levaduras como huésped. Marcadores de selección en levaduras. Vectores replicativos, integrativos y cromosomas artificiales (YAC's). Vectores para el sistema de doble híbrido.

Tema 10.- Transferencia génica e ingeniería genética en células vegetales. Características de los genomas vegetales. *Agrobacterium tumefaciens* y el plásmido Ti. Vectores derivados de pTi. Transferencia de DNA a células vegetales. Virus de plantas. Aplicaciones comerciales de las plantas transgénicas.

Tema 11.- Transferencia génica e ingeniería genética en células animales. Transformación, transducción y transfección. Introducción de DNA exógeno en células animales. Marcadores y métodos de transfección. Vectores de clonaje: derivados de SV 40, adenovirus, virus de la vacuna, retrovirus. Líneas celulares empaquetadoras. Aplicaciones de la transferencia génica a mamíferos.

III. SISTEMAS DE EXPRESION DEL DNA RECOMBINANTE

Tema 12.- Sobreexpresión y purificación de proteínas recombinantes. Factores que determinan la eficacia de un promotor. Sistemas de expresión de proteínas recombinantes en bacterias. Proteínas de fusión. Detección de los productos de expresión. Análisis de Western. Optimización de la expresión de proteínas recombinantes. Purificación de proteínas a partir de cuerpos de inclusión. Sobreexpresión en levaduras. Sistemas de expresión génica en baculovirus, plantas y células de mamíferos.

Tema 13.- Transcripción y traducción *in vitro* de genes clonados. Posibilidades de los sistemas de transcripción y traducción *in vitro* para la resolución de problemas biológicos. Transcripción y traducción *in vitro*. Sistemas de expresión libres de células. Sistemas que emplean RNA como molde. (reticulocitos de conejo, germen de trigo). Sistemas que utilizan DNA como molde (sistemas acoplados). Sistemas comerciales.

IV. REGULACION DE LA EXPRESION GENICA

Tema 14.- Análisis de promotores. Determinación de puntos de inicio y terminación de la transcripción. Promotores. Identificación de secuencias consenso. Fusiones a genes informadores (*reporter genes*) para el análisis de promotores. Cuantificación del nivel de expresión de un gen.

Tema 15.- Estudio de la interacción proteínas-ácidos nucleicos. Características generales y funciones de las proteínas de unión a DNA. Detección de la interacción de proteínas con el DNA. Ensayos de desplazamiento de la movilidad electroforética (EMSA). Especificidad de la unión. Determinación de la secuencia de unión. Footprinting enzimático (DNAsaI). Footprinting químico (radicales hidroxilo).

Tema 16.- RNAs reguladores. Tecnología antisentido y sus aplicaciones. Funciones del RNA antisentido natural. Características. RNAs no codificantes y RNAs antisentido cis y trans. Identificación. RNA antisentido artificiales. RNA de interferencia (iRNA). Características. Silenciamiento de genes. Pequeños RNA

de interferencia (siRNA). Mecanismo de acción. Aplicaciones.

V. APLICACIONES Y PERSPECTIVAS DE LA INGENIERIA GENETICA

Tema 17.- Uso de la Ingeniería genética en Bioremediación. Ingeniería genética y Bioética. Patentes biotecnológicas: fortalezas y debilidades.

Bibliografía recomendada:

- Perera J, Tormo A, García JL. (2002) Ingeniería Genética Vol. I. Preparación, análisis, manipulación y clonaje de DNA. Editorial Síntesis.

- Perera J, Tormo A, García JL. (2002) Ingeniería Genética Vol. II. Expresión de DNA en sistemas heterólogos. Editorial Síntesis.

Estos dos volúmenes se ajustan bastante al contenido del curso. Contienen una serie de problemas resueltos al final de cada capítulo, así como la explicación de algunos casos prácticos que refuerzan lo aprendido en las clases de teoría.

- Izquierdo Rojo, Marta. (2014). Curso de Genética Molecular e Ingeniería Genética. Editorial pirámide.

Libro sencillo que se ajusta bastante al contenido del curso.

- S.B. Primrose y R.M. Twyman. (2006) Principles of gene manipulation and genomics. 7a Edición Editorial: Blackwell Publishing.

Refundición y actualización de dos best-sellers: Principles of gene manipulation (la primera edición es de 1980). Incluye ejemplos y numerosas referencias sobre trabajos científicos originales.

- J.D. Watson, A. Caudy, R. Myers y J. Witkowski (2007). Recombinant DNA. Genes and genomes, a short course. Editorial: WH Freeman & Company y Cold Spring Harbor Laboratory Press. Claro, didáctico y actualizado, incluye un enfoque histórico de la materia.

- J.D. Watson y otros autores. (2008) Molecular Biology of the Gene, 6a edición. Editorial: Benjamin Cummings y Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Figuras claras y atractivas. Incluye abundantes explicaciones con el desarrollo de las aproximaciones experimentales más utilizadas en ingeniería genética.

- Glick, B.R., Pasternak, J.J. (2003) Molecular Biotechnology: Principles and applications of recombinant DNA. (3ª ed.). American Society for Microbiology Press.

Enfocado a las aplicaciones de la Ingeniería genética en Biotecnología, muy didáctico.

-Green M. R., Sambrook J. (2012) Molecular Cloning: A Laboratory Manual (4ª ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Última edición del clásico manual de laboratorio de ingeniería genética, con abundantes y detallados protocolos.

2:
Actividad Formativa 2: Resolución de problemas y casos prácticos (0,5 ECTS).

Metodología:

Aprendizaje basado en resolución de problemas y casos prácticos.

3:
Actividad Formativa 3: Trabajo práctico en el laboratorio (1 ECTS).

Metodología:

Prácticas de laboratorio, discusión e interpretación de los resultados. Presentación oral y discusión.

4:
Actividad Formativa 4: Seminarios (0,5 ECTS).

Metodología:

- Preparación de seminarios basados en publicaciones científicas originales o **Asistencia a conferencias de expertos invitados relacionadas con la temática del curso.**

- Exposición, **en su caso** y debate.

Planificación y calendario

Calendario de sesiones presenciales y presentación de trabajos

Las clases teóricas tendrán lugar durante 3 horas semanales, durante el segundo cuatrimestre (consultar horarios en: <http://ciencias.unizar.es/web/horarios.do>), y se llevarán a cabo de acuerdo con el Calendario Académico aprobado para la Universidad de Zaragoza.

Las clases de problemas y seminarios se integrarán en el horario previsto para las clases teóricas. La entrega de trabajos tendrá como fecha límite el 30 de mayo.

Para las prácticas de laboratorio, las fechas concretas y la composición de los grupos de prácticas se anunciará oportunamente en el aula, en el tablón de anuncios del Grado en Biotecnología, y en el ADD.

Referencias bibliográficas de la bibliografía recomendada

- Biología molecular del gen / James D. Watson... [et al.] ; . - 5ª ed. Buenos Aires [etc.] : Ed. Médica Panamericana, D.L. 2005
- Glick, Bernard R.. Molecular biotechnology : principles and applications of recombinant DNA / Bernard R. Glick and Jack J. Pasternak . - 3rd ed. Washington : ASM Press, cop. 2003
- Izquierdo Rojo, Marta. Curso de genética molecular e ingeniería genética / Marta Izquierdo Rojo . [Madrid] : Pirámide, D.L. 2014
- Molecular biology of the gene / James D. Watson ... [et al.] . - 7th edition Boston [etc.] : Pearson : Cold Spring Harbor Laboratory Press, cop. 2014
- Perera, Julián. Ingeniería genética. Volumen I. Preparación, análisis, manipulación y clonaje de DNA / Julián Perera, Antonio Tormo, José Luis García. Madrid : Síntesis, D.L. 2002 [Hay otro ejemplar de 2010 reimpresión]
- Perera, Julián. Ingeniería genética. Volumen II. Expresión de DNA en sistemas heterólogos / Julián Perera, Antonio Tormo, José Luis García. Madrid : Síntesis, D.L. 2002 [Hay otro ejemplar de 2010 reimpresión]
- Primrose, S.B.. Principles of gene manipulation and genomics / S.B. Primrose and R.M. Twyman . - 7th ed. Malden, Massachusetts [etc.] : Blackwell Publishing , 2006
- Recombinant DNA : genes and genomes, a short course / James D. Watson ... [et al.] . 3rd ed. New York : W.H. Freeman : Cold Spring Harbor Laboratory Press, c2007