

**FICHA IDENTIFICATIVA****Datos de la Asignatura**

Código	33139
Nombre	Ingeniería Genética
Ciclo	Grado
Créditos ECTS	6.0
Curso académico	2020 - 2021

Titulación(es)

Titulación	Centro	Curso	Periodo
1109 - Grado de Bioquímica y Ciencias Biomédicas (2015)	Facultad de Ciencias Biológicas	3	Primer cuatrimestre

Materias

Titulación	Materia	Caracter
1109 - Grado de Bioquímica y Ciencias Biomédicas (2015)	10 - Métodos instrumentales	Obligatoria

Coordinación

Nombre	Departamento
ESTRUCH ROS, FRANCISCO	30 - Bioquímica y Biología Molecular

RESUMEN

El objetivo de esta asignatura es dar las bases teóricas de los métodos utilizados en la Biología Molecular y en la tecnología del DNA recombinante, así como sus aplicaciones a las áreas de la Biología Animal y humana. La parte práctica de la asignatura pretende familiarizar al alumno con las técnicas de uso más frecuente en laboratorios que usan técnicas de Biología Molecular y de Ingeniería Genética.

CONOCIMIENTOS PREVIOS**Relación con otras asignaturas de la misma titulación**

No se han especificado restricciones de matrícula con otras asignaturas del plan de estudios.



Otros tipos de requisitos

COMPETENCIAS

1101 - Grado de Bioquímica y Ciencias Biomédicas

- Capacidad para trabajar correctamente en los laboratorios de bioquímica, genética, biología molecular y celular incluyendo seguridad, manipulación, eliminación de residuos y registro anotado de actividades.
- Capacidad para utilizar la instrumentación básica en experimentación molecular y celular.
- Tener una visión integrada de las técnicas y métodos utilizados en biociencias moleculares y biomedicina.
- Capacidad para diseñar experimentos y aproximaciones multidisciplinares para la resolución de problemas concretos.
- Capacidad para presentar, discutir y extraer conclusiones de los resultados de los experimentos científicos.

RESULTADOS DE APRENDIZAJE

- Adquisición y comprensión de los conocimientos en las técnicas en bioquímica, genética, biología molecular y celular.
- Resolver ejercicios teóricos y prácticos.
- Interpretar, presentar y discutir datos y resultados experimentales.
- Diseño de experimentos para resolver problemas concretos.

DESCRIPCIÓN DE CONTENIDOS

1. Introducción.

La tecnología del DNA recombinante. Definiciones e introducción histórica.

2. Obtención de DNA y RNA.

Extracción, purificación y precipitación del ácidos nucleicos. Obtención de plásmidos.

3. Enzimología básica utilizada en la manipulación del DNA.

Enzimas de restricción, DNA polimerasas, DNA ligasas, transcriptasa inversa, etc.



4. Vectores básicos de clonación.

Características generales de un vector de clonación. Métodos de selección. Vectores de clonación basados en plásmidos. Vectores de clonación basados en el fago lambda. Vectores de clonación de levaduras. Vectores lanzadera. YACs. Virus como vectores de clonación en organismos complejos.

5. Obtención y/o síntesis de fragmentos específicos de DNA.

Generación y unión de fragmentos de restricción. Síntesis de cDNA. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Tipos de TPC. Amplificación isotérmica de ácidos nucleicos.

6. Estrategias de clonación.

Clonación direccional y no direccional. Clonación de productos de PCR. Genotecas. Clonación por complementación. Técnicas especiales de clonación: User assembly, Gibson assembly, Golden Gate, Gateway cloning. Clonación mediante recombinación: clonación por recombinación homóloga en levadura. El TAR (transformation-associated recombination) cloning. Genómica sintética.

7. Producción de proteínas heterólogas.

Optimización de la expresión de genes foráneos en Escherichia coli. Proteínas recombinantes expresadas en células eucarióticas. Transcripción y traducción in vitro.

8. Secuenciación de DNA.

Métodos de secuenciación. Estrategias para la secuenciación de un fragmento de DNA. Nuevos métodos de alta capacidad de secuenciación: segunda y tercera generación.

9. Identificación de secuencias específicas de ácidos nucleicos en mezclas complejas.

Técnicas de hibridación: el Southern blot

10. Técnicas de análisis de la expresión génica

Northern blot. PCR a tiempo real. Matrices de DNA. RNA seq. RNA seq de células individuales.

11. Modificación de la secuencia de DNA parte 1

Mutagénesis química. Mutagénesis in vitro del DNA. Mutagénesis dirigida mediante el uso de oligonucleótidos. Técnicas de mutagénesis dirigida basada en la PCR. Construcción de cassettes para introducción de cambios de secuencia por recombinación homóloga. Mutagénesis insercional. Gene trap. Evolución dirigida.



12. Modificación de la secuencia de DNA parte 2.

Edición genómica en organismos complejos. Endonucleasas de alta especificidad. Nucleasas dirigidas por dedos de zinc. TALEs. Cas9/CRISPR.

13. Análisis funcional parte 1.

Identificación y caracterización de interacciones físicas entre macromoléculas.

Interacciones proteína-proteína: Co-inmunoprecipitación de proteínas. La técnica TAP. El método del doble híbrido.

Interacciones proteína-DNA: Cambios de movilidad en gel. Protección al ataque de nucleasas y agentes químicos in vitro e in vivo. Interferencia por metilación. Inmunoprecipitación de cromatina (ChIp). ChIp exo.

14. Análisis funcional parte 2.

Análisis fenotípico de mutantes. Colecciones de mutantes: RNA de interferencia y mutantes obtenidos con genotecas de gRNA por la técnica CRISPR/Cas9. Perturb-seq. Identificación y caracterización de interacciones genéticas. Supresores y modificadores. Letalidad sintética. Identificación de interacciones genéticas en levaduras y mamíferos.

15. Aplicaciones.

Aplicaciones terapéuticas. Terapia Génica. Gene Drive.

16. Transgénesis en animales.

Animales transgénicos: obtención y aplicaciones. Manipulación de células embrionarias. Micro inyección. Pruebas de transfección. Obtención de animales clónicos.

17. SESIONES PRÁCTICAS

Práctica 1.- Construcción de una genoteca.

Práctica 2.- Expresión de proteínas en Escherichia coli.

Práctica 3.- Construcción del mapa de restricción de un plásmido.

Práctica 4.- Detección y caracterización de levaduras transgénicas.



VOLUMEN DE TRABAJO

ACTIVIDAD	Horas	% Presencial
Clases de teoría	40,00	100
Prácticas en laboratorio	16,00	100
Tutorías regladas	4,00	100
Preparación de clases de teoría	76,00	0
Preparación de clases prácticas y de problemas	14,00	0
TOTAL	150,00	

METODOLOGÍA DOCENTE

El desarrollo de la asignatura se estructura en base a sesiones teóricas, tutorías personales o a través del correo electrónico.

Sesiones teóricas: En el apartado de trabajo presencial, se incluyen un total de 35 sesiones de clases teóricas correspondientes a lecciones magistrales, seminarios o clases de cuestiones, de una hora de duración. Con anterioridad a cada lección, los estudiantes dispondrán de todo el material gráfico significativo que vaya a ser presentado. Dicho material estará incluido en la correspondiente página web del *Aula Virtual* de la Universitat de València. De esta forma, se pretende que el estudiante pueda seguirlos con comodidad, tomando solamente las notas necesarias para su apropiada comprensión.

Tutorías personales: La función de las tutorías es ayudar y guiar de forma personal al estudiante en todos los problemas que surjan al enfrentarse con el estudio de la asignatura. Facilitan el intercambio de opiniones entre el profesor y el estudiante, en un esfuerzo de aproximación a la enseñanza individualizada. Las tecnologías de la información y de la comunicación también pueden utilizarse para potenciar la interacción profesor-estudiante. En todo caso se prefiere la tutoría presencial mucho más adecuada para la explicación de las dudas y cuestiones.

Actividades prácticas: Se han programado 5 sesiones de 2 a 4 horas (total 17 h) sobre diversos aspectos de las técnicas de Biología Molecular y DNA recombinante que son adaptables a un laboratorio de prácticas.

EVALUACIÓN

Se realizará un examen para valorar los conocimientos adquiridos en las clases teóricas y prácticas.

A la parte teórica **le corresponderá un valor del 85% de la nota final** mientras que las prácticas **representarán el 15%** (repartidas entre la memoria, 7,5%, y una o varias preguntas relacionadas con las prácticas que se incluirán en el examen de la asignatura, que representarán el 7,5% de la nota). Para aprobar la asignatura se necesitará una puntuación mínima de 4,5 puntos sobre los 9,25 puntos del examen (8,5 puntos de la parte de teoría y 0,75 puntos de las cuestiones de prácticas).



Se valorarán adicionalmente (hasta 0.5 puntos) las presentación voluntaria de las respuestas a las cuestiones planteadas por el profesor en sesiones de tutorías.

La asistencia a las prácticas es obligatoria y también lo es la presentación de la memoria. En caso de no aprobar la asignatura, la nota de prácticas correspondiente a la memoria y a las cuestiones del examen se podrá conservar para la convocatoria o curso siguiente.

REFERENCIAS

Básicas

- En este apartado se incluyen únicamente aquellos textos que se pueden considerar como de uso general en la asignatura, con un comentario crítico de cada uno de ellos. Se ha considerado conveniente dividir los textos generales en dos grupos.

Libros de texto.

Estos libros están escritos para explicar las metodologías desde un punto de vista docente y bastante teórico. Son lo más apropiados para la asignatura.

BROWN, T.A. (2011). Gene cloning and DNA analysis. An introduction. 6ª edición. Ed Blackwell Science

Un excelente libro de texto de un nivel más sencillo que otros pero muy bien explicado y actualizado

GLICK, B.R. y PASTERNAK, J.J. (2009). Molecular Biotechnology. Principles and applications of recombinant DNA. 4th ed. ASM Press.

Un libro de fácil lectura con formato de libro de texto y muy actualizado. Es el más apropiado para los últimos temas del programa.

GLOVER D. M. y HAMES B.D. (1994). DNA cloning (vol 1, 2, 3, 4). A practical approach. IRL Perss
Recoge tanto técnicas básicas como aplicaciones de métodos de Ingeniería Genética.

REAL GARCÍA, M. D.; RAUSELL SEGARRA, C. Y LATORRE CASTILLO, A. (2017). Técnicas de ingeniería genética. Editorial Síntesis.

Un texto en castellano que trata de forma detallada las principales técnicas de la Ingeniería Genética

- KINGSMAN, S.M. y KINGSMAN, A.J. (1990). Genetic engineering: An introduction to gene analysis and exploitation in eukaryotes. Blackwell.

Muy apropiado para la parte de técnicas de transformación de plantas.

KREUZER, H. y MASSEY, A. (1996). Recombinant DNA and Biotechnology. A guide for teachers. ASM Press.

Un libro único que contiene explicaciones, experimentos y cuestiones sobre Biología Molecular, DNA recombinante y Biotecnología. Muy útil pues cubre un vacío en su campo.



LEWIN, B. (2010). "Genes X". Jones & Bartlett.

Es el libro más conocido como texto de Biología Molecular. Para Métodos no es muy apropiado pero, aún así, tiene algunos capítulos de utilidad. Existe una traducción de la 7ª edición inglesa del 2000 y una portal de internet (www.ergito.com) donde se actualizan los contenidos periódicamente.

LUQUE, J. y HERRAEZ, A. (2001) Biología Molecular e Ingeniería Genética. Harcourt.

Muy amplio de contenidos pero tiene buenos esquemas para algunos capítulos de esta asignatura.

MARAMOROSCH K. (1991) Biotechnology for biological control of pests and vectors. CRC Press.

Trata un amplio abanico de aplicaciones biotecnológicas en bacterias, virus y plantas.

- PERERA, J., TORMO, A. y GARCIA J.L. (2002). Ingeniería genética. Vol.I. y Vol II. Ed. Síntesis.

Libros en castellano que cubren prácticamente todos los temas del programa, con introducciones claras exponiendo los objetivos de cada capítulo. Además incluyen, al final de cada capítulo, problemas resueltos.

PRIMROSE S.B. y TWYMAN R.M. (2006). "Principles of gene manipulation and Genomics." 7ª ed. Blackwell Publishing.

Constituye la fusión entre los antiguos textos de los mismos autores sobre Manipulación Genética y Genómica. Es un texto fundamental en la bibliografía básica sobre Ingeniería Genética que se utiliza en este asignatura. Su contenido está expuesto de manera clara y sus figuras son sencillas y didácticas.

WATSON, J.D.; GILMAN, M.; WITKOWSKI, J. y ZOLLER, M. (1992). "Recombinant DNA". 2a ed. Scientific American Books.

Excelente introducción expuesta de forma muy didáctica mediante abundantes esquemas y figuras. Muy recomendable por su claridad. Existe una traducción al castellano (1986) de la 1a edición inglesa.

WINNACKER E.L. (ed.) (1987). "From genes to clones". VCH.

Quizá este es el libro de Ingeniería Genética más completo. En muchos de sus temas excede el contenido del programa propuesto por lo que resulta útil como libro de consulta y ampliación.

Complementarias

- Libros de protocolos.

Estos libros han sido escritos para el uso de los investigadores en los laboratorios. Contienen recetas de los distintos protocolos así como esquemas explicaciones teóricas de los fundamentos de los métodos y posibles artefactos. No son muy apropiados para aprender los principios básicos de las metodologías pero pueden ayudar a aclarar algunos puntos concretos y conviene familiarizarse con ellos pues son los que se usarán después en el laboratorio.

AUSUBEL, F.M. et al. (1987-97). Current protocols in Molecular Biology. John Wiley & sons.

Quizá el libro más completo de protocolos. Además, debido a su formato de hojas recambiables, se actualiza de forma periódica.



BIRREN ET AL. (1999). Genome analysis. 4 Volúmenes. Cold Spring Harb. Lab.Press
Uno de los más completos libros de protocolos, considerando los 4 volúmenes. Incluye aplicaciones de metodología de Ingeniería Genética.

SAMBROOK, J. y RUSSELL, D.W. (2001). Molecular Cloning. A laboratory manual. 3ª ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press (3 volúmenes).
El más famoso libro de protocolos de Biología Molecular. Es uno de los más populares y la actualización del mismo es muy reciente.

DIEFFENBACH, C.W. y DVEKSLER, G.S. (1995). PCR primer. A laboratory manual. Cold Spring Harbor.
Un manual específico sobre PCR.

ADENDA COVID-19

Esta adenda solo se activará si la situación sanitaria lo requiere y previo acuerdo del Consejo de Gobierno

Contenidos y Volumen de trabajo

Sin cambios

Metodología

El punto de inicio dado el número de estudiantes y las aulas disponibles es de plena presencialidad en las actividades. Sin embargo, ante la posibilidad de que la evolución de la situación derivada de la COVID-19 obligue a una reducción de la presencialidad, se tomarán las siguientes medidas:

1) Las actividades presenciales en aula se sustituirían en función de las herramientas tecnológicas disponibles en el aula en el momento de desarrollo del curso, por las siguientes metodologías:

-Videoconferencia síncrona

-Presentaciones Powerpoint locutadas en Aula Virtual

-Propuestas de actividades de resolución de Cuestionarios de Aula Virtual y entrega de tareas y cuestiones por Aula Virtual

2) Las actividades presenciales de prácticas de laboratorio, se sustituirían por las siguientes metodologías:

- Presentaciones Powerpoint locutadas en Aula Virtual

- Trabajo con datos experimentales suministrados



- Discusiones en foros asíncronos en Aula Virtual

3) Para tutorías y dudas se utilizarían las siguientes metodologías:

-Chats síncronos en Aula Virtual

-Foros asíncronos en Aula Virtual

-Comunicación directa profesor-estudiante a través del correo institucional

Evaluación

En caso de reducción de la presencialidad, se reajustará la distribución de la nota de la siguiente manera:

Exámenes teóricos: 7 puntos

Examen Prácticas: 1 punto

Trabajos sobre procedimientos y metodologías de artículos de investigación: 2 puntos

En caso de que los exámenes no pudieran ser presenciales, se realizarían 'on line' en Aula Virtual mediante las herramientas disponibles.

Los detalles concretos de la adaptación a las situaciones que se pudieran producir se supervisarán por la CAT y se comunicaran a los estudiantes a través de Aula Virtual.