

**COURSE DATA****Data Subject**

Code	33139
Name	Genetic engineering
Cycle	Grade
ECTS Credits	6.0
Academic year	2020 - 2021

Study (s)

Degree	Center	Acad. year	Period
1109 - Degree in Biochemistry and Biomedical Sciences	Faculty of Biological Sciences	3	First term

Subject-matter

Degree	Subject-matter	Character
1109 - Degree in Biochemistry and Biomedical Sciences	10 - Métodos instrumentales	Obligatory

Coordination

Name	Department
ESTRUCH ROS, FRANCISCO	30 - Biochemistry and Molecular Biology

SUMMARY

The objective of this subject is to provide the basic theoretical knowledge about the methods used in molecular biology and recombinant DNA technology and their applications to the areas of animal and human biology. The practical part of the course aims to familiarize students with the techniques most frequently used in laboratories of molecular biology and genetic engineering.

PREVIOUS KNOWLEDGE**Relationship to other subjects of the same degree**



There are no specified enrollment restrictions with other subjects of the curriculum.

Other requirements

OUTCOMES

1101 - Degree in Biochemistry and Biomedical Sciences

- 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.

LEARNING OUTCOMES

- Acquiring knowledge and understanding of the techniques in biochemistry, genetics, molecular and cellular biology.
- Solve theoretical and practical exercises.
- Interpret, present and discuss data and experimental results.
- Design of experiments to solve specific problems.

DESCRIPTION OF CONTENTS

1. Introduction.

The recombinant DNA technology. Definitions and historical development.

2. Obtaining DNA and RNA.

Extraction, purification and precipitation of nucleic acids. Preparation of plasmids.



3. Basic enzymology used in the manipulation of DNA.

Restriction enzymes, DNA polymerases, DNA ligases, reverse transcriptase, etc.

4. Basic cloning vectors.

General characteristics of a cloning vector. Methods of selection. Plasmid-based cloning vectors. Cloning vectors based on lambda phage. Vectors for yeast cloning. Shuttle vectors. YACs. Viruses as vectors for cloning in complex organisms.

5. Preparation and / or synthesis of specific DNA fragments.

Generation and joining of restriction fragments. cDNA synthesis. The polymerase chain reaction (PCR). Types of PCR. Isothermal amplification of nucleic acids.

6. Cloning strategies.

Directional and non-directional cloning. Cloning of PCR products. Gene libraries. Cloning by complementation. Special cloning techniques: User assembly, Gibson assembly, Golden Gate, Gateway cloning. Cloning by recombination: cloning by homologous recombination in yeast. The TAR (transformation-associated recombination) cloning. Synthetic genomics.

7. Production of heterologous proteins.

Optimization of foreign gene expression in Escherichia coli. Recombinant proteins expressed in eukaryotic cells. Transcription and translation in vitro.

8. DNA sequencing.

Methods of sequencing. Strategies for the sequencing of a DNA fragment. Next generation sequencing: methods of high sequencing capacity.

9. Identification of specific nucleic acid sequences in complex mixtures.

Identification of specific nucleic acid sequences in complex mixtures.

10. Gene expression analysis.

Northern blot. Real-time PCR. DNA matrices. RNA seq. Seq RNA from single cells.



11. Modification of DNA sequence part 1

Chemical mutagenesis. In vitro mutagenesis of DNA. Mutagenesis directed by the use of oligonucleotides. Techniques of directed mutagenesis based on PCR. Construction of cassettes for introduction of sequence changes by homologous recombination. Insertional mutagenesis. Gene trap. Directed evolution.

12. Modification of DNA sequence part 2.

Genomic editing in complex organisms. Endonucleases of high specificity. Nucleases directed by zinc fingers. TALEs. Cas9 / CRISPR.

13. Functional analysis part 1.

Identification and characterization of physical interactions between macromolecules.

Protein-protein interactions: Co-immunoprecipitation of proteins. The TAP technique. The double hybrid method.

Protein-DNA interactions: Changes in gel mobility. Protection against attack of nucleases and chemical agents in vitro and in vivo. Interference by methylation. Immunoprecipitation of chromatin (ChIp). ChIp exo.

14. Functional analysis part 2.

Phenotypic analysis of mutants. Collections of mutants: RNA interference and mutants obtained with gRNA libraries by the CRISP / Cas9 technique. Perturb-seq. Identification and characterization of genetic interactions. Suppressors and modifiers. Synthetic lethality. Identification of genetic interactions in yeasts and mammals.

15. Applications.

Therapeutic applications. Gene therapy. Gene Drive.

16. Transgenic animals.

Construction and applications. Manipulation of embryonic cells. Microinjection. Transfection tests. Obtaining cloned animals.

17. LABORATORY EXPERIENCES

Practice 1. - Construction of a library.

Practice 2. - Protein expression in Escherichia coli.

Practice 3. - Construction of the restriction map of a plasmid.

Practice 4. - Detection and characterization of transgenic yeast.



WORKLOAD

ACTIVITY	Hours	% To be attended
Theory classes	40,00	100
Laboratory practices	16,00	100
Tutorials	4,00	100
Preparing lectures	76,00	0
Preparation of practical classes and problem	14,00	0
TOTAL	150,00	

TEACHING METHODOLOGY

The development of the course is structured around theoretical sessions, personal coaching or through e-mail.

Theoretical sessions: A total of 35 one-hour classroom sessions for lectures and seminars will be scheduled. Before each lesson, students will be provided with all significant artwork that will be presented. This material will be available in multimedia. Thus, it is intended that the student can follow the explanations more easily, taking only the notes needed for proper understanding.

Personal tutoring: The role of tutoring is to help and guide the student personally in all the problems that arise in dealing with the study of the subject, and facilitate the exchange of views between teacher and student, in an effort to approach teaching in a personalized way. Communication on-line can also be used to enhance teacher-student interaction. In any case, preferred tutorial classes are much more suitable for the explanation of the doubts and questions.

Practical activities: 5 sessions are scheduled from 2 to 4 hours each (total 17 h) on various aspects of molecular biology techniques and recombinant DNA that are adaptable to laboratory practice.

EVALUATION

At the end of the course, an examination will be conducted to evaluate the knowledge acquired in theoretical and practical classes.

The theoretical part will have a value of 85% of the final grade while practices account for 15% (distributed between the lab report, 7.5%, and one or more questions related to practices that will be included in the final exam, which represent 7.5% of the note). To pass the course, it will be needed a minimum score of 4.5 points from the 9,25 points of the exam (8.5 points from theory and 0.75 points from the questions related with practices).



The voluntary submission of responses to the questions raised by the teacher during tutoring sessions will be further assessed with up to 0.5 points.

Attendance at practices is mandatory and so is the presentation of the lab report. In case of failure to pass the course, the score corresponding to the report and the questions related with practices of the exam can be kept for the following call or course.

REFERENCES

Basic

- 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 Press
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.

Additional

- 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.

ADDENDUM COVID-19

This addendum will only be activated if the health situation requires so and with the prior agreement of the Governing Council

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.