

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

Código	33139
Nombre	Ingeniería Genética
Ciclo	Grado
Créditos ECTS	6.0
Curso académico	2023 - 2024

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

0. Introducción.

Ingeniería Genética: definiciones. Herramientas de la Ingeniería Genética. El DNA recombinante. Desarrollo histórico. Uso responsable de la Ingeniería Genética.

1. Enzimología básica utilizada en la manipulación de los ácidos nucleicos.

Nucleasas específicas: Enzimas de restricción, endonucleasas de alta especificidad, nucleasas dirigidas por dedos de zinc, TALEs y el sistema Cas9/CRISPR. Nucleasas no específicas. DNA polimerasas: DNA pol I y el fragmento Klenow, transcriptasa reversa, polimerasas termoestables. DNA ligasas. Polinucleótido quinasa. Fosfatasa alcalina



2. Obtención, purificación y caracterización de ácidos nucleicos.

Métodos rápidos de obtención de ácidos nucleicos. Procedimiento estándar de extracción. Purificación y/o concentración de ácidos nucleicos. Obtención de plásmidos. Análisis cuantitativo y cualitativo de los ácidos nucleicos. Identificación de secuencias específicas de ácidos nucleicos en mezclas complejas: técnicas de hibridación: Southern Blot y Northern Blot

3. Vectores básicos de clonación.

Plásmidos: tipos y características. La complementación alfa. Bacteriófagos. Fagémidos. Cósmidos. Cromosomas artificiales. Vectores bi-funcionales o lanzadera. Plásmidos de levadura. Transformación de bacterias y levaduras. Vectores para la expresión heteróloga de proteínas.

4. Síntesis de fragmentos específicos de DNA.

Síntesis de cDNA. Obtención de cDNAs completos. Síntesis de oligonucleótidos. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Tipos de PCR. Amplificación isotérmica de ácidos nucleicos.

5. Estrategias de clonación.

Clonación de fragmentos de restricción. Generación y unión de fragmentos de restricción. Generación de extremos romos y protuberantes. Clonación no-direccional y direccional. Restricciones completas y parciales. Construcción y caracterización de genotecas de DNA genómico. Clonación de cDNAs. Genotecas de cDNA. Clonación de productos de PCR. TA cloning. Adición de secuencias en los extremos de un fragmento de PCR. Técnicas especiales de clonación: User assembly. Gibson assembly. Golden Gate. Gateway cloning. Clonación mediante recombinación: clonación por recombinación homóloga en levadura: TAR (transformation-associated recombination) cloning. Genómica sintética.

6. Secuenciación de DNA.

El método de Sanger. Obtención de la secuencia de genomas completos: los genomas de referencia. Nuevos métodos de alta capacidad de secuenciación (NGS): segunda y tercera generación.

7. Técnicas para el estudio de la expresión génica.

Northern blot. Matrices (arrays) de DNA. Cuantificación de transcritos mediante PCR. PCR semicuantitativa. PCR a tiempo real. RNA-seq. RNA-seq de células individuales.



8. Modificación de la secuencia de DNA

Mutación al azar. Mutagénesis química. Identificación de mutantes y clasificación alélica en levaduras. Clonación por complementación. Mutagénesis insercional en levaduras y ratones. Evolución dirigida. Interacciones genéticas entre alelos mutantes: supresión y letalidad sintética. Cambios específicos en la secuencia. Mutagénesis dirigida in vitro. Disrupciones génicas. Técnicas de mutagénesis dirigida basada en la PCR. Intercambio de secuencias silvestres por secuencias mutadas in vitro mediante recombinación homóloga. Adición genómica de etiquetas a proteínas.

9. Modificación de la secuencia de DNA parte 1

Transfección y transducción. Expresión transitoria y permanente. Principales vectores víricos. Adenovirus. Virus adenoasociados. Retrovirus y lentivirus. Edición genómica en organismos complejos. Terapia génica: CAR-T. Terapia génica: SMA. Gene drive. Mutagénesis masiva en células superiores e identificación fenotípica de mutantes. Letalidad sintética y cáncer..

10. 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. Inmunoprecipitación de cromatina (ChIp).

11. Transgénesis en animales.

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

12. 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.

Práctica 5 - Identificación de interacciones entre proteínas mediante el método del doble híbrido



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. (2020). Gene cloning and DNA analysis. An introduction. 8ª edición. Ed. Blackwell Science. ISBN: 978-1-119-64078-3

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

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

- 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.

-

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 escuetas 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.