

## 27121 - Ingeniería genética

### Información del Plan Docente

<b>Año académico</b>	2016/17
<b>Centro académico</b>	100 - Facultad de Ciencias
<b>Titulación</b>	446 - Graduado en Biotecnología
<b>Créditos</b>	6.0
<b>Curso</b>	3
<b>Periodo de impartición</b>	Segundo Semestre
<b>Clase de asignatura</b>	Obligatoria
<b>Módulo</b>	---

### 1. Información Básica

#### 1.1. 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.

#### 1.2. 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, en la sección correspondiente al Grado en Biotecnología: <https://ciencias.unizar.es/grado-en-biotecnologia>

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.

### 2. Inicio

#### 2.1. Resultados de aprendizaje que definen la asignatura

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

Realización de manipulaciones sencillas de ingeniería genética.

Diseño del procedimiento más adecuado para elaborar una genoteca y seleccionar el gen de interés.

## 27121 - Ingeniería genética

Conocimiento de los métodos de transferencia génica en microorganismos, plantas y animales.

Conocimiento y uso de los métodos de análisis funcional del gen.

Conocimiento de las bases de la producción de proteínas recombinantes y la alteración de la información génica.

Búsqueda y análisis de información específica relacionada con la asignatura.

### 2.2.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.

### 3.Contexto y competencias

#### 3.1.Objetivos

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.

#### 3.2.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.

#### 3.3.Competencias

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

Conocer las herramientas básicas de la ingeniería genética y sus aplicaciones.

Utilizar los sistemas más comunes de modificación y transferencia génica en procariotas y entender su funcionamiento.

Utilizar los sistemas más comunes de modificación y transferencia génica en células eucariotas y entender su funcionamiento.

## 27121 - Ingeniería genética

Diseñar sistemas de expresión del DNA recombinante y de caracterización de la expresión génica.

Entender los métodos básicos de alteración de la información génica y del análisis funcional del gen.

Diseñar y realizar operaciones sencillas de Ingeniería Genética en el laboratorio.

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.

### 3.4.Importancia de los resultados de aprendizaje

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.

### 4.Evaluación

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

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.**

Para la calificación de las sesiones prácticas, los alumnos redactarán un informe sobre un caso práctico relacionado con

## 27121 - Ingeniería genética

el contenido de las mismas. El informe se realizará en grupo y ponderará un 25% en la calificación final de la asignatura. Es importante recordar que para aprobar la asignatura es requisito indispensable aprobar el examen teórico con un mínimo de 5 puntos sobre 10.

Además de la modalidad de evaluación señalada en los puntos anteriores, el alumno podrá ser e valorado 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.**

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

### 5.Actividades y recursos

#### 5.1.Presentación metodológica general

El proceso de aprendizaje de esta asignatura se basa en la asistencia y comprensión de las clases teóricas, que servirán de basa para resolver los problemas propuestos a lo largo del curso, así como para realizar con éxito las sesiones prácticas en el laboratorio.

El proceso de aprendizaje que se ha diseñado para esta asignatura se basa en la comprensión y asimilación de una serie de conceptos y técnicas que se trabajarán en las clases magistrales participativas y que servirán de punto de partida para resolver los casos prácticos propuestos en las sesiones de problemas. Estas sesiones comenzarán a mediados del cuatrimestre, cuando el estudiante haya recibido los suficientes conocimientos de teoría para poder ser capaz de resolver la mayor parte de estas cuestiones prácticas con éxito. Se llevarán a cabo en grupos de 30-35 estudiantes como máximo.

Además, la asignatura tiene un crédito de prácticas de laboratorio que se realizarán en grupos reducidos de 10-12 alumnos, donde el estudiante llevará a cabo una serie de experimentos utilizando las técnicas básicas de Ingeniería genética.

Finalmente, se impartirán una serie de conferencias/seminarios sobre casos prácticos y aplicaciones en la vida cotidiana de las técnicas aprendidas.

#### 5.2.Actividades de aprendizaje

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

**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).

## 27121 - Ingeniería genética

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.**

Todo alumno será informado sobre los riesgos que puede tener la realización de las prácticas de esta asignatura, así como si se manejan productos peligrosos y qué hacer en caso de accidente, y deberá firmar el compromiso a cumplir con las normas de trabajo y seguridad para poder realizarlas. Para más información, consultar la información para estudiantes de la Unidad de Prevención de Riesgos Laborales: <http://uprl.unizar.es/estudiantes.html> .

### 5.3.Programa

#### CLASES MAGISTRALES

#### I. HERRAMIENTAS Y TECNICAS BASICAS EN INGENIERIA GENETICA.

**Tema 1.- Herramientas básicas en Ingeniería Genética** . Sistemas de modificación restricción. DNA ligasas. Polinucleótido kinasa. Fosfatasas. 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

## 27121 - Ingeniería genética

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 h&íbrido.

**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

## 27121 - Ingeniería genética

**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 (DNAsal). 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.

### PRÁCTICAS DE LABORATORIO

Durante las sesiones prácticas se realizarán las siguientes actividades:

1-Clonaje de un inserto en un vector. En esta práctica los alumnos debatirán sobre las herramientas y metodología que deben emplear bajo la tutoría de los profesores.

2-Medida de la expresión de un gen reportero bajo diferentes condiciones de inducción o represión.

3-Transfección de un vector derivado del fago M13 en *Escherichia coli* y visualización de las placas que forma el fago.

## 27121 - Ingeniería genética

### 5.4. 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: <https://ciencias.unizar.es/grado-en-biotecnologia>), 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.

### 5.5. Bibliografía y recursos recomendados

- 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
- 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
- Molecular biology of the gene / James D. Watson ... [et al.] . - 7th edition Boston [etc.] : Pearson : Cold Spring Harbor Laboratory Press, cop. 2014
- Izquierdo Rojo, Marta. Curso de genética molecular e ingeniería genética / Marta Izquierdo Rojo . [Madrid] : Pirámide, D.L. 2014