

Guía Docente

DATOS DE IDENTIFICACIÓN

Titulación:	Grado en Biotecnología		
Rama de Conocimiento:	Ciencias		
Facultad/Escuela:	Ciencias Experimentales		
Asignatura:	Tecnología del DNA Recombinante		
Tipo:	Obligatoria	Créditos ECTS:	6
Curso:	3	Código:	2037
Periodo docente:	Sexto semestre		
Materia:	Tecnologías Avanzadas de Formación Biotecnológica		
Módulo:	Herramientas Biotecnológicas		
Tipo de enseñanza:	Presencial		
Idioma:	Castellano		
Total de horas de dedicación del alumno:	150		

Equipo Docente	Correo Electrónico
Águeda Mercedes Tejera	agueda.tejera@ufv.es
Ana Ortega Molina	
Cristina Sánchez Martínez	cristina.sanchez@ufv.es

DESCRIPCIÓN DE LA ASIGNATURA

La tecnología del DNA recombinante alberga un conjunto de metodologías encaminadas a manipular el DNA, amplificarlo, secuenciarlo, transferirlo entre organismos genéticamente diferentes y a hacer nuevas combinaciones entre moléculas de DNA que normalmente proceden de especies diferentes y cuya expresión en un organismo hospedador dará lugar a un producto con valor en medicina, agricultura, ciencia básica e industria. En el presente curso se explicarán las bases moleculares de las diferentes técnicas de manipulación del DNA y

su aplicación, haciendo especial hincapié en las metodologías de clonaje para la expresión de proteínas recombinantes tanto en bacterias como en organismos eucariotas, así como para la obtención de librerías genómicas. Igualmente se explicarán las técnicas para la obtención de organismos transgénicos y clónicos y sus aplicaciones en investigación básica y biotecnológica.

Hasta el principio de los años 70, el DNA era la molécula biológica más difícil de analizar para los bioquímicos. Debido a su gran longitud y a su monotonía química, la cadena polinucleotídica que forma el material genético de un organismo sólo podía ser examinada indirectamente por secuenciación de proteínas y/o RNA o bien mediante análisis genéticos. Hoy en día la situación ha cambiado totalmente y en muchos laboratorios de todo el mundo, es una práctica rutinaria aislar un fragmento específico de DNA del genoma de un organismo para producir un número virtualmente ilimitado de copias, determinar su secuencia nucleotídica y ensayar su función. Mediante técnicas de manipulación del DNA, un gen aislado se puede modificar y devolver a una célula bacteriana o a una célula germinal de un animal o planta de tal forma que llegue a ser parte funcional y heredable del genoma del organismo (ingeniería genética). Esos avances técnicos en la ingeniería genética, la habilidad para manipular el DNA con precisión en un tubo de ensayo o en un organismo, han tenido un impacto espectacular en todos los aspectos de la biología celular, facilitando el estudio de las células y sus macromoléculas de formas inimaginables hasta hace pocos años. Las técnicas de manipulación del DNA han supuesto un desarrollo exponencial en diferentes áreas como la biología, generando la aparición de nuevas áreas de investigación como la genómica funcional y la proteómica, han dado lugar a la biotecnología moderna mediante la cual se pone a trabajar al gen en la producción de proteínas y otros compuestos útiles a nivel industrial y se generan animales y plantas transgénicos. Estas técnicas están revolucionando la medicina mediante la producción de fármacos recombinantes, están permitiendo avances en diagnóstico clínico gracias a la identificación de genes responsables de enfermedades y al desarrollo de la terapia génica así como han llegado a ser una herramienta imprescindible en las ciencias forenses actuales. Es predecible que en los próximos años, la tecnología del DNA recombinante impacte incluso la forma en la que vivimos.

La asignatura corresponde al módulo Herramientas Biotecnológicas, integrada dentro de la materia Tecnologías Avanzadas de Formación Biotecnológica y supone 150 horas de actividad por parte del alumno. Esta asignatura permitirá al los alumnos obtener el conocimiento y dominio de las técnicas de ingeniería Genética y les proporcionará la base necesaria para la comprensión de otras asignaturas de la titulación como son la Genómica y Proteómica, también pertenecientes al mismo módulo, así como las asignaturas de Organismos modificados genéticamente, Agrobiotecnología y Microbiología industrial.

Una vez completada de manera exitosa la asignatura Tecnología del DNA recombinante, el alumno habrá adquirido los conocimientos teóricos necesarios para la resolución práctica de los problemas más comunes que se le presentarán en el futuro en el desarrollo de su profesión. Asimismo, la asignatura contribuirá al desarrollo del método científico del futuro profesional, inculcándole hábitos rigurosos de investigación, de sentido crítico, de inquietud por saber y de creatividad que favorecerán sus capacidades de adaptación intelectual a situaciones profesionales nuevas, así como su maduración profesional y personal.

OBJETIVO

El objetivo fundamental de la asignatura es que el alumno conozca la tecnología del DNA recombinante y sus aplicaciones más frecuentes en investigación básica, biotecnológica y biosanitaria.

Los fines específicos de la asignatura son:

FE1. Conocer las bases teóricas fundamentales de la tecnología del DNA recombinante.

FE2. Decidir las estrategias experimentales más adecuadas para llevar a cabo la manipulación del DNA según el objetivo.

FE3. Explicar los requisitos fundamentales para la expresión de proteínas heterólogas de interés biotecnológico.

FE4. Distinguir las posibles vías de transferencia de DNA a células procariotas o eucariotas.

FE5. Proponer modelos experimentales de modificación génica (procariotas o eucariotas) para generar herramientas de investigación o productos biotecnológicos.

CONOCIMIENTOS PREVIOS

Para el correcto desarrollo de la asignatura el alumno debe poseer una sólida formación en Genética Molecular, más específicamente en lo referente a la estructura y propiedades de los ácidos nucleicos así como a los mecanismos de replicación, transcripción y traducción en organismos procariotas y eucariotas.

CONTENIDOS

PROGRAMA TEÓRICO

TEMA 1. Introducción.

- o Contenido y organización de la asignatura.
- o Concepto de la Tecnología del DNA Recombinante.
- o Aplicaciones de la Tecnología del DNA Recombinante

TEMA 2. Técnicas básicas de análisis de ácidos nucleicos.

- o Esquema general del proceso de clonación.
- o Purificación de ácidos nucleicos.
- o Electroforesis en geles de agarosa y acrilamida.
- o Técnicas de hibridación de ácidos nucleicos.

TEMA 3. Enzimas utilizadas en la Tecnología del DNA Recombinante.

- o Nucleasas de DNA
- o Endonucleasas de Restricción
- o DNA Ligasas, estrategias de ligación
- o DNA y RNA polimerasas
- o Enzimas que modifican los extremos del DNA

TEMA 4. Amplificación de secuencias de DNA y RNA.

- o Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).
- o Componentes de la reacción.
- o Variantes de la PCR: RT-PCR, RACE, PCR multiplex, y otras.
- o PCR cuantitativa y en tiempo real.
- o Análisis de los productos de amplificación.
- o Aplicaciones de la PCR.
- o Métodos de diagnóstico molecular.

TEMA 5. Clonación en bacterias.

- o Proceso de clonación en bacterias
- o Plasmidos, características generales.
- o Vectores de clonación..
- o Etapas de clonación en bacterias mediante el uso de enzimas de restricción.
- o Estrategias de clonaje seamless.
- o Generación de librerías .
- o Expresión de proteínas recombinantes en Escherichia coli.

TEMA 6. Clonación en levaduras.

- o Vectores de clonación en levaduras.
- o Transformación en levaduras.
- o Marcadores de selección.
- o Producción de proteínas recombinantes en Saccharomices cerevisiae .
- o Estudio de las interacciones proteína-proteína mediante el doble híbrido.
- o Expresión de proteínas en Pichia pastoris.

TEMA 7: Transferencia génica a células animales.

- o Expresión de proteínas recombinantes en células animales.
- o Marcadores de transfección y selección en células eucariotas.
- o Sistemas no virales: métodos químicos y físicos de transfección.
- o Vectores de clonación derivados de plásmidos.
- o Sistemas virales: vectores de clonación derivados de virus.

TEMA 8: Manipulación génica de animales.

- o Aplicaciones de los organismos modificados genéticamente. Modelos.
- o Producción de animales modificados genéticamente: microinyección pronuclear, transfección de células stem embrionarias.
- o Sustitución dirigida de genes (gene targeting). Modelos mutantes nulos (knockout) y con cambios de función (knockin).
- o Mutantes condicionales con control temporal y/o espacial.

TEMA 9. CRISPR/CAS9.

- o Introducción. Nucleasas programables
- o Fundamentos de la tecnología y aplicaciones.
- o Genome editing en células de mamífero.

TEMA 10. Terapia basada en ácidos nucleicos

- o Terapia basada en RNA.
- o Terapia génica y celular: estrategias, terapias ex vivo e in vivo, vectores.

TEMA 11. Transgénesis vegetal.

- o Cultivo de tejidos vegetales.
- o Vectores de clonación en plantas.
- o Transferencia de DNA a células vegetales.
- o Marcadores de selección.

PROGRAMA PRÁCTICO

Clonación de secuencias de DNA en plásmidos bacterianos: construcción del plásmido recombinante, transformación, selección e identificación de clones.

ACTIVIDADES FORMATIVAS

Las actividades formativas, así como la distribución de los tiempos de trabajo, pueden verse modificadas y adaptadas en función de los distintos escenarios establecidos siguiendo las indicaciones de las autoridades sanitarias.

Durante las clases de teoría se dará a conocer al alumno el contenido de la asignatura, de acuerdo con el programa de la misma. En las prácticas de laboratorio los alumnos realizarán experimentos que les permiten aplicar técnicas de manipulación de DNA vistas en los contenidos teóricos. Las Actividades Formativas podrán ser llevadas a cabo tanto en español como en inglés, e incluirán clases magistrales, flipped classroom, trabajo colaborativo y aprendizaje basado en proyectos.

AF1. Clases teóricas.

En las clases teóricas se expondrán sinópticamente los temas, utilizando diferentes recursos didácticos. Podrán ser impartidas por las profesoras, un invitado o algunos temas concretos podrán ser preparados por los alumnos. Se alentará a la participación positiva, resolviendo en conjunto las dudas que vayan surgiendo, con búsqueda activa de información. El profesor entregará a los alumnos las presentaciones en formato electrónico a fin de facilitar su estudio, antes o después de la clase. Las profesoras de la asignatura NO autorizan la publicación por parte del alumno del material entregado por ellas en el Aula Virtual, o por cualquier otro medio.

AF2. Clases prácticas I.

Realización de experimentos reales en el laboratorio docente donde se aplican las técnicas y los conocimientos relacionados con los contenidos de la asignatura.

AF3. Clases prácticas II

Realización de problemas: al finalizar cada bloque del temario se plantearán y resolverán ejercicios prácticos relacionados con el bloque dado, de forma presencial o no presencial.

AF4. Trabajo en equipo.

Los alumnos realizarán un trabajo en grupo de 4 a 6 personas. Los temas a tratar serán propuestos por ellos mismos o por el profesor, deben estar relacionados con esta asignatura y con las asignaturas Microbiología Industrial I y Contabilidad y Análisis de Estados financieros, con las que se realizará el trabajo de forma conjunta y coordinada. El objetivo es desarrollar una propuesta emprendedora en el sector de la industria biotecnológica, en el que se integre una estrategia de mejora de cepas o productos de interés microbianos mediante modificaciones genéticas empleando los conocimientos adquiridos en la asignatura de Tecnología del DNA recombinante, y el diseño de un programa de procesamiento industrial para maximizar su producción. Se pretende, desde una base científica, promover el valor económico de un producto microbiológico de interés industrial. Asimismo, la propuesta incluirá un análisis de la previsión de costes y un plan de negocio con un resumen de la inversión necesaria para llevar a cabo dicha propuesta, poniendo en práctica los conocimientos adquiridos en la asignatura de Contabilidad y Análisis de Estados Financieros. Se trabajará con bibliografía en inglés sobre algún proceso o producto biotecnológico de interés industrial y por ello los alumnos han de comprender bien el trabajo desarrollado en los artículos científicos y bibliografía científica consultada para poder después cimentar su proyecto, presentarlo al resto de la clase y elaborar un resumen de la propuesta. Además, se valorará la incorporación de propuestas innovadoras o emprendedoras propias que puedan mejorar el proceso o producto sobre el que han trabajado. La presentación oral de los trabajos podrá llevarse a cabo en un horario acordado diferente al de las clases teóricas de Tecnología del DNA recombinante.

Los alumnos no matriculados en las asignaturas de Microbiología Industrial I y/o Contabilidad y Análisis de Estados Financieros, o decidan no presentar el trabajo en forma conjunta, pueden optar por la realización de un trabajo que presente una propuesta innovadora que aplique los conocimientos adquiridos en la asignatura, en grupos de 3 o 4 personas que entregarán y presentarán a través del Aula Virtual.

AF5. Tutorías.

Mediante las tutorías el profesor, a requerimiento del alumno y en el horario establecido para ello, resolverá dudas o discutirá las cuestiones que le plantee el alumno, con el fin de orientarle en el aprendizaje de la asignatura.

DISTRIBUCIÓN DE LOS TIEMPOS DE TRABAJO

ACTIVIDAD PRESENCIAL	TRABAJO AUTÓNOMO/ACTIVIDAD NO PRESENCIAL
66 horas	84 horas

COMPETENCIAS

Competencias básicas

Que los estudiantes hayan demostrado poseer y comprender conocimientos en un área de estudio que parte de la base de la educación secundaria general, y se suele encontrar a un nivel que, si bien se apoya en libros de texto avanzados, incluye también algunos aspectos que implican conocimientos procedentes de la vanguardia de su campo de estudio

Que los estudiantes sepan aplicar sus conocimientos a su trabajo o vocación de una forma profesional y posean las competencias que suelen demostrarse por medio de la elaboración y defensa de argumentos y la resolución de problemas dentro de su área de estudio

Que los estudiantes tengan la capacidad de reunir e interpretar datos relevantes (normalmente dentro de su área de estudio) para emitir juicios que incluyan una reflexión sobre temas relevantes de índole social, científica o ética

Que los estudiantes puedan transmitir información, ideas, problemas y soluciones a un público tanto especializado como no especializado

Que los estudiantes hayan desarrollado aquellas habilidades de aprendizaje necesarias para emprender estudios posteriores con un alto grado de autonomía

Competencias generales

Conocer las aplicaciones de la biotecnología en los campos sanitario, alimentario, agrobiotecnológico, medioambiental y químico.

Adquirir la capacidad de pensamiento analítico, sintético, reflexivo, crítico, teórico y práctico.

Capacidad para la resolución de problemas y la toma de decisiones.

Adquirir las habilidades requeridas para el trabajo experimental: diseño, realización, recogida de resultados y obtención de conclusiones, entendiendo las limitaciones de la aproximación experimental.

Adquirir los conocimientos de bioquímica y biología molecular necesarios para el desarrollo de procesos y productos biotecnológicos.

Aplicar los conocimientos teóricos, prácticos y humanos adquiridos en la Universidad a la realización de prácticas en centros de investigación y empresas biotecnológicas.

Competencias específicas

Definir y saber aplicar las técnicas de ingeniería genética al estudio de la expresión y función génica en distintos sistemas, así como la manipulación y modulación de la expresión génica.

Saber describir, cuantificar, analizar y evaluar críticamente los resultados obtenidos del trabajo experimental realizado en laboratorio.

Desarrollar hábitos de pensamiento riguroso.

Saber aplicar los conocimientos teóricos adquiridos a la resolución de problemas y casos prácticos relacionados con las distintas materias.

RESULTADOS DE APRENDIZAJE

Conoce y aplica adecuadamente las bases teóricas fundamentales de la tecnología del DNA recombinante.

Decide la estrategia adecuada para llevar a cabo las manipulaciones básicas del DNA.

Resuelve de manera razonada problemas característicos derivados de la asignatura mediante planteamiento de estrategias experimentales.

Diseña protocolos de clonaje encaminados a la expresión heteróloga de proteínas y a la creación de librerías genómicas.

Diseña vectores con fines terapéuticos utilizando los ácidos nucleicos como base de esta terapia.

Planifica estrategias experimentales para la consecución de animales y plantas transgénicos.

Aplica técnicas de manipulación de DNA en el laboratorio que le permiten obtener y amplificar moléculas de DNA recombinante.

SISTEMA DE EVALUACIÓN DEL APRENDIZAJE

Los exámenes serán presenciales siempre y cuando la situación sanitaria lo permita. Las conductas de plagio, así como el uso de medios ilegítimos en las pruebas de evaluación, serán sancionados conforme a los establecido en la Normativa de Evaluación y la Normativa de Convivencia de la universidad.

SISTEMA ORDINARIO:

La nota final de la asignatura se obtendrá a partir de las calificaciones obtenidas en la evaluación de los siguientes módulos, y será necesario sacar al menos el 50% de la nota total para considerar aprobada la asignatura:

SE1. Examen de teoría: 70%

El examen tendrá como objetivo principal comprobar que se han asimilado y comprendido los conceptos básicos expuestos en las clases teóricas, así como la capacidad de razonamiento de los alumnos para resolver problemas sobre la tecnología del DNA recombinante. Por consiguiente, el examen constará de una parte teórica basada en preguntas tipo test y/o preguntas cortas, y otra parte que consistirá en la resolución de problemas. Los exámenes también contendrán preguntas relacionadas con las posibles charlas magistrales impartidas por los investigadores invitados. La nota teórica final supondrá un 70% de la nota final.

SE2. Realización del trabajo práctico en laboratorio: 15%

La asistencia a prácticas será obligatoria e indispensable para poder presentarse al examen de teoría y al examen de prácticas. Las prácticas supondrán un 15% de la nota total de la asignatura. La evaluación de este bloque se hará como se explica a continuación:

SE2.1 Aprovechamiento e interés mostrado durante las prácticas: se evaluará por una rúbrica que se hará pública (20%).

SE2.2 Realización de test que demuestren su conocimiento de la práctica que están llevando a cabo según el

Guión de prácticas (20%).

SE2.3 Examen final de prácticas que se realizará el mismo día que el examen final de teoría y que evaluará la comprensión de las prácticas (60%). Es obligatorio superar este examen con, al menos, el 50% de la nota, para aplicar el resto de los porcentajes.

SE3. Preparación de trabajos: 10%

El alumno puede optar por la realización del trabajo en conjunto con las asignaturas Microbiología Industrial I y Contabilidad y Análisis de Estados Financieros o por la realización del trabajo monográfico acerca de temas relacionados con la asignatura. El alumno tiene que optar sólo por uno de ellos y deberá comunicar su decisión al profesor responsable dentro de las dos primeras semanas de clase, a través del Aula Virtual. La nota de cualquiera de los dos trabajos supondrá un 10% de la nota final de la asignatura.

SE4. Realización y evaluación del trabajo práctico: 5%

La evaluación continua consistirá en la realización de ejercicios, cuestiones, problemas, tests o entrega de ejercicios, tanto de forma presencial como por Aula Virtual. La realización de los trabajos prácticos avisados será obligatoria, tanto presenciales como no presenciales, en caso de ausencia injustificada, o no realización de estos, dicha actividad será calificada como 0. Si un alumno puede justificar su ausencia a una actividad presencial o síncrona avisada, se le dará la oportunidad de realizar una actividad más para hacer una media, con carácter obligatorio. A partir de una ausencia justificada, la nota de la actividad no realizada contará como 0 y será incluida en la media final del bloque SE4. La nota del bloque SE4 supondrá un 5% de la nota final de la asignatura y tendrá en cuenta las notas obtenidas en cada una de las actividades realizadas (excluyendo la más baja) y la participación activa y positiva en las clases. Se evaluará la actitud y la generación de resultados durante el desarrollo de las clases y los trabajos.

Para poder promediar las diferentes partes es indispensable obtener una valoración igual o superior a 5 tanto en SE1, como en SE2 y SE3. En caso de suspender una de las partes en la convocatoria ordinaria, se guardará la nota de la parte aprobada para la convocatoria extraordinaria del mismo año académico pero no para los siguientes.

En SE4 no será necesario sacar una nota mínima. Pero, si tras aplicar todos los porcentajes la asignatura está suspensa, este ítem se podrá recuperar, opcionalmente, realizando una actividad extra que determinen las profesoras de la asignatura y que valore esas competencias en la convocatoria extraordinaria. La nota de esa actividad supondrá el 5% de la nota final de la asignatura.

También se guardará la nota del SE3 sólo para la convocatoria extraordinaria del mismo año académico. El alumno que no hubiese aprobado la asignatura en la convocatoria ordinaria, y aún habiendo aprobado el trabajo para SE3, decidiera hacer la actividad extra en la convocatoria extraordinaria, deberá comunicárselo al profesor responsable 14 días naturales antes de la fecha de examen de dicha convocatoria. En tal caso, la nota final de la SE3 será la que obtengan en la convocatoria extraordinaria, anulando la anterior. En cualquier caso, la nota final de SE3 constituirá el 10% de la nota final de la asignatura.

SISTEMA ALTERNATIVO (I):

Sólo en el caso de alumnos en segunda convocatoria y posteriores, que hayan realizado el 100% de las sesiones prácticas en el laboratorio de forma presencial, y alumnos con dispensa académica, pueden optar entre acogerse al Sistema Primario especificado previamente (en cuyo caso deberán cumplir con todos los requisitos, incluida la asistencia a clase) o acogerse al sistema alternativo en el que se aplicarán los siguientes porcentajes:

- Examen final de teoría (75%)
- Examen final de prácticas (15%)
- Entrega del trabajo en equipo (10%)

Para poder promediar las diferentes partes es indispensable obtener una valoración igual o superior a 5 tanto en el examen final de teoría como en el examen final de prácticas.

Esta decisión deberán comunicarla por mail al profesor responsable durante las dos primeras semanas de clase. En caso de no informar, se asumirá la evaluación por el sistema alternativo.

SISTEMA ALTERNATIVO COVID (II):

Los exámenes serán presenciales siempre y cuando la situación sanitaria lo permita. En el caso de que las recomendaciones sanitarias nos obliguen a volver a un escenario donde la docencia haya que impartirla exclusivamente en remoto, en el Sistema de Evaluación se aplicarán los siguientes cambios:

- SE1. Examen de teoría: subirá un 10% en todos los casos, incluirá preguntas y ejercicios del tipo de los realizados en el Guión de prácticas de laboratorio.
- SE2. Realización del trabajo práctico en laboratorio: 5%, será obligatorio realizar las actividades alternativas, resolver el cuestionario del Guión de prácticas y entregarlo para su evaluación.
- SE3. Preparación de trabajos: 10%, sin cambios
- SE4. Realización y evaluación del trabajo práctico: sin cambios. (Solo para alumnos en el sistema primario, 5%)

Para poder promediar las diferentes partes es indispensable obtener una valoración igual o superior a 5 tanto en SE1, como en SE2 y SE3, tal como se indica en el apartado "Sistema ordinario".

Básica

Glick, B.R. and Pasternak, J.J. Molecular biotechnology. Principles and applications of recombinant DNA. 5th ed. ASM Press, 2017.

Brown, T.A. "Genomes 4" (Genomes, 4th Edition). Garland Science, 2017.

Primrose, SB and Twyan RM. Principles of gene manipulation and genomics. 7th edition. Blackwell Science, 2006.

Strachan, T. and Read, A.P. Human Molecular Genetics. 5th edition. Garland Science, 2019

Complementaria

Perera, J. Tormo, A., García, JL. Ingeniería Genética. Editorial Síntesis. Madrid, 2002.

Rastogi, S. and Pathak, N. Genetic engineering. Oxford University Press, 2009.

Brown, T.A. Gene cloning and DNA analysis. An introduction. 7th edition. Ed. Wiley-Blackwell, 2015.