

PROYECTO NATURA



27/04/2023

Proyecto Natura: Proyecto ApS para aplicar la levadura como modelo en etapas educativas preuniversitarias

RESUMEN DEL PROYECTO

Este proyecto consiste en dar a conocer el amplio uso que tienen las levaduras en el campo de la biotecnología, concretamente de la especie *Saccharomyces cerevisiae*. Tiene una gran variedad de características destacadas que la hacen idónea para ser un organismo modelo, además de su amplio uso en industrias como la alimentaria, la farmacéutica o la biomédica. También se pretende enseñar algunas nociones básicas sobre modificación genética haciendo uso de este organismo para la obtención de levaduras transgénicas.

PROYECTO NATURA

PROYECTO NATURA: PROYECTO APS PARA APLICAR LA LEVADURA COMO MODELO EN ETAPAS EDUCATIVAS PREUNIVERSITARIAS

1. EQUIPO PARTICIPANTE

ÁREA TEMÁTICA: uso de levaduras como organismo modelo en biotecnología	
Título del proyecto: Proyecto Natura: Proyecto ApS para aplicar la levadura como modelo en etapas educativas preuniversitarias	
	Nombre y Apellidos
Alumno/a UVEG	Viviana Pont Osé
Profesor/a de la UVEG	Inmaculada Quilis Bayarri Carmel Ferragud
Profesor/a de secundaria	Amparo Benavenides
Maestro/a de Primaria	María José Moreno

ALUMNOS DE ESO PARTICIPANTES	Curso	Asignatura
15 (toda la clase)	4º	Experimenta (optativa)

Debido a que es una asignatura optativa de alumnos de 4º de la ESO, encontramos estudiantes tanto de la rama de Ciencias como de la rama de Humanidades y Ciencias Sociales.

Número de alumnos de Educación Primaria que pueden participar: 75 alumnos. El CEIP con el que trabajamos dispone de 3 clases de 6º de educación primaria con aproximadamente 25 alumnos cada una, con lo cual se desarrolla la actividad en las 3 clases.

Curso recomendado: 6º

PROYECTO INTERDEPARTAMENTAL SI/NO: Sí, en ámbito universitario. En cuando a Educación Secundaria Obligatoria, sólo interviene el departamento de Ciencias Naturales.

DEPARTAMENTOS QUE INTERVIENEN: Historia de la ciencia y Documentación; Bioquímica y Biología Molecular (Universitat de València). Departamento de Ciencias Naturales (IES Ramón Muntaner).

2. OBJETIVOS

2.1 TEMA EN QUE SE ENMARCA EL PROYECTO

Bloque temático de Educación Primaria (EP):

Puesto que son alumnos de tercer ciclo, el proyecto se enmarca en el bloque 1, correspondiente a la parte de Cultura Científica. Dentro de este, se puede relacionar con los subapartados que pertenecen al grupo denominado como “Seres Vivos”, siendo estos subapartados “La clasificación de los seres vivos, los grandes reinos de la naturaleza”, “y La célula”.

Bloque temático de Educación Secundaria obligatoria (ESO):

En el ámbito de la ESO, contando con que la actividad se ha realizado dentro de una asignatura optativa que correspondería a Cultura científica, el centro ha escogido hacer hincapié en ciertos conceptos que se han dado en algunas de las asignaturas correspondientes con el itinerario de ciencias. Estos temas son: “La célula eucariota. Reproducción”, “Concepto de gen”, “Expresión de la información genética. Código genético” y “Ingeniería genética: técnicas y aplicaciones. Biotecnología. Bioética”.

2.2 CONCEPTO A TRANSMITIR

Idea principal:

La idea principal de este proyecto era dar a conocer las características del organismo modelo *Saccharomyces cerevisiae* y su uso tanto a nivel industrial como a nivel de investigación científica. Este organismo, históricamente, mantiene una relación muy estrecha con el ser humano ya que se trata de la levadura que se utiliza para la fabricación de productos de panadería, de cerveza y de vino. Del mismo modo, también se utiliza ampliamente en el campo científico ya que es un organismo extremadamente versátil, es un modelo eucariota y comparte muchos procesos celulares con las células humanas. Además, también era importante introducir el concepto de modificación genética, y que *Saccharomyces cerevisiae* tiene una gran facilidad de manipulación de genes y que, más aún, disponemos de herramientas genéticas y moleculares para realizar estas modificaciones, con la finalidad de obtener levaduras transgénicas para mejorar su capacidad de producción o realizar nuevos estudios.

Palabras clave: *Saccharomyces cerevisiae*, organismo modelo, fermentación, investigación, transformación

2.3 OBJETIVOS

EDUCACIÓN PRIMARIA:

Objetivo didácticos:

- Aprender la importancia que pueden llegar a tener los microorganismos para el ser humano, que no todos los microorganismos causan enfermedades sino que pueden ser de gran utilidad en distintos ámbitos.
- Aprender a trabajar en equipo para completar las cuestiones propuestas por los alumnos de ESO.
- Despertar la curiosidad científica al trabajar de manera dinámica sobre conceptos introducidos por los alumnos de ESO y tras tratar con materiales nuevos como puede ser el microscopio óptico.

Objetivo científicos:

- Aprender sobre la estructura celular de *Saccharomyces cerevisiae* a través de maquetas realizadas por los alumnos.
- Aprender a visualizar muestras a través del microscopio óptico.

- Aprender sobre el proceso de fermentación mediante un experimento sencillo, rápido y muy visual
- Aprender sobre el proceso de gemación mediante un taller de *Slime*.

EDUCACIÓN SECUNDARIA OBLIGATORIA:

Objetivo didácticos:

- Adquisición de conceptos nuevos a los que no habían sido expuestos anteriormente.
- Desarrollo de habilidades de comunicación: los estudiantes han de expresar las ideas adquiridas a lo largo del proyecto y transmitir las de manera eficaz y concisa a la clase de EP. Con este punto también reforzamos el trabajo en equipo y la creatividad, ya que entre toda la clase han de colaborar para desarrollar talleres que sirvan de aprendizaje para los alumnos del EP.
- Trabajo del pensamiento crítico: han de sacar conclusiones del experimento realizado por ellos mismos en este proyecto.

Objetivo científicos:

- Ser capaces de trabajar en condiciones de esterilidad a la hora de trabajar con microorganismos vivos.
- Aprender a utilizar material de laboratorio como pueden ser las micropipetas automáticas.
- Preparación de muestras en portaobjetos para su posterior visualización en el microscopio.
- Plantear hipótesis para finalmente comprobarlas mediante experimentos y poder sacar sus propias conclusiones.

2.4. COMPETENCIAS BÁSICAS

Competencias básicas en 6º de EP:

- Habilidad para adquirir conocimientos científicos y poder utilizarlos para organizar el trascurso de sus talleres y poder avanzar en el desarrollo de estos.
- Desarrollo de habilidades sociales debido al trabajo en grupos reducidos para el desarrollo de cada taller.

Competencias básicas en 4º de la ESO:

- Desarrollo de competencias relacionadas con la comunicación, ya que han de enseñar a los alumnos de 6º de EP los conceptos esenciales que ellos mismos han aprendido a lo largo de los meses anteriores.
- Desarrollo de habilidades digitales haciendo uso de las TIC para preparar las actividades a llevar a cabo en EP.
- Desarrollo de competencias creativas para transmitir conceptos nuevos de manera dinámica y eficaz a los alumnos de EP.

3. MATERIALES Y METODOLOGÍA

Materiales:

Para las clases magistrales:

- El programa en línea "Canva" para realizar las presentaciones
- Proyector

Para la sesión de laboratorio en ESO:

- Precultivo de levaduras (cepa W303 de *S. cerevisiae*)
- Cultivo en medio SC

- Eppendorfs
- Mecheros de alcohol
- Pipetas automáticas de 20 µL, 200 µL y 1000 µL
- 15 Placas de medio Sintético Completo sin uracilo
- Puntas amarillas y azules estériles
- Gradillas
- Asas de plástico para la siembra
- Acetato de Litio a 0'1 M y 1M
- Polietilenglicol (PEG) al 50%
- DNAs (cadena simple)
- H₂O estéril
- Plásmido 1 (Plásmido para la expresión de una proteína citoplasmática fusionada a GFP) y plásmido 2 (Plásmido para la expresión de una proteína nuclear fusionada a GFP)
- Termobloque
- Centrífuga

Para la sesión de visualización en el microscopio de fluorescencia (visita al Campus de Burjassot):

- Placas de colonias de levadura transformadas con los plásmidos
- Cultivos líquidos de células de levadura transformadas con los plásmidos 1 ó 2
- Pipetas automáticas de 20 µL
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Esmalte de uñas para sellar las muestras
- Rotulador de vidrio para rotular los portas
- Microscopio de fluorescencia
- Ficha final de resultados

Experiencia:

- *Saccharomyces cerevisiae* en medio líquido YPD (Medio rico)
- Placas de YPD sin sembrar
- Asas de siembra de plástico
- Placas con contaminaciones de ejemplo
- Carteles tamaño A3
- Flyers con información

Talleres EP:

- Presentación ppt, pizarras vileda
- Estación 1: slime
- Estación 2: tubos de ensayo, gradillas, agua tibia, azúcar, levadura fresca, globos
- Estación 3: microscopio óptico, cubres, portas, levadura fresca, agua, matraz
- Estación 4: Maquetas, carteles identificativos

Metodología:

En 4º de la ESO:

- Clase magistral. Esta metodología se ha utilizado con la finalidad de transmitir de la manera más directa y sólida posible los fundamentos teóricos necesarios para el desarrollo de todo el proyecto.
- Aprendizaje basado en proyectos. Los estudiantes han desarrollado un proyecto que consistía en la obtención de levaduras transgénicas que fuesen capaces de expresar proteína fluorescente

verde. A lo largo de este, han ido aprendiendo conceptos nuevos como por ejemplo en qué consiste un organismo transgénico, o qué es la expresión heteróloga de un gen.

- Aprendizaje cooperativo. Este ha tenido lugar a la hora de desarrollar las actividades que se realizarían en EP.

En 6º de EP:

- Se utilizan metodologías de gamificación ya que se hace uso de elementos de juego y dinámicas lúdicas para el aprendizaje. Se fomenta la participación activa y el logro de objetivos.
- En este curso también se hace uso de un aprendizaje cooperativo, pero en este caso para completar cada uno de los talleres preparados por los alumnos de ESO.
- Aprendizaje *showdown*: para revisar el contenido explicado en clase, los alumnos de 4º de ESO al finalizar una pequeña explicación con los conceptos clave sobre las levaduras, lanzan preguntas cortas que los alumnos de EP contestarán escribiendo su respuesta en una pizarra de manera individual, y una vez hayan escrito todas sus respuestas las compartirán a la vez con toda la clase.

Lugar y /o requerimientos de espacio:

- Aulas de laboratorio del IES Ramón Muntaner.
- Laboratorios docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas y sala con el microscopio de fluorescencia.
- Aulas de 6º de EP del CEIP Miguel de Cervantes.

4. DESCRIPCIÓN DETALLADA

4.1. CRONOGRAMA

Cronograma del proyecto

TAREAS	DICIEMBRE-ENERO	FEBRERO-MARZO	ABRIL	MAYO
DISEÑO DEL PROYECTO	●			
CLASES TEORICAS SECUNDARIA		●		
SESION DE LABORATORIO			●	
VISUALIZACIÓN DE RESULTADOS				●
EXPOCIENCIA				●
DESARROLLO EN PRIMARIA				●

4.2 DIARIO DE PROYECTO

Lunes 24 de febrero de 2023

Se realizó la primera sesión teórica (en el Anexo I encontramos la presentación) en la que abarcamos una gran variedad de conceptos básicos que nos serían útiles posteriormente para el desarrollo del proyecto. Presentamos la iniciativa de los Projectes Natura y planteamos los pasos a seguir a lo largo de los meses siguientes.

Una vez planteado el proyecto, empezamos hablando de la levadura desde una perspectiva histórica, partiendo de cómo ya en la época del Antiguo Egipto utilizaban ciertos componentes para la producción de bebidas alcohólicas hasta llegar a la primera visualización microscópica de este organismo, que hasta entonces no había sido considerado como un ser vivo.

Hablamos de qué son las levaduras y de por qué *Saccharomyces cerevisiae* supone un organismo modelo dentro de este grupo de seres vivos. Discutimos sus características más importantes: amplio conocimiento de su genoma, no es patógena, crecimiento rápido, fácilmente transformable...

Por otra parte, en cuanto a características importantes de este microorganismo, profundizamos con más detalle en su metabolismo y su versatilidad. Definimos conceptos clave como fermentación alcohólica, ATP y anaerobiosis facultativa

Martes 7 de marzo de 2023

Tuvo lugar la segunda y última sesión teórica, en la que se planteó una pequeña introducción a la ingeniería genética y a la obtención de levaduras transgénicas para uso biotecnológico (Anexo II). Hablamos de la definición de gen y su función, para poder así asociarlo a la explicación de la idea de ingeniería genética. Concretamente hicimos hincapié en los organismos transgénicos, definimos el concepto y también cómo se podía llevar a cabo en un organismo como *Saccharomyces cerevisiae*. Hablamos de los siguientes usos de levaduras transgénicas:

- Producción de alimentos fermentados
- Producción de proteínas recombinantes
- Biorremediación

Y de cada uso pudieron ver un ejemplo. En cuanto a ejemplos, el que más llamó la atención y sobre el que más hablamos fue el de obtención de transgénicos que expresaran proteínas fluorescentes, y finalmente los alumnos decidieron que querían llevar a cabo su propia transformación para la obtención de levaduras que expresaran GFP.

Para finalizar esta sesión, llevamos a cabo un pequeño debate sobre si estaban a favor o en contra de los organismos transgénicos, ya que es un tema bastante controvertido en la sociedad de hoy en día. Primero expuse algunos de los pros y los contras de estos organismos, y cerramos la sesión con algunas opiniones de los alumnos de ESO. Algunas de las opiniones fueron:

"Yo creo que si pueden hacer bien deberían usarse, pero con medidas" .- Arnau

"Si pueden hacer daño a las plantas que ya existen no creo que deban usarse" .-Rocío

Lunes 3 de abril de 2023

Este día tuvo lugar la sesión de laboratorio (Anexo III) en la que los estudiantes llevaron a cabo una transformación mediante choque térmico de una cepa concreta de *Saccharomyces cerevisiae*. Partimos de una cepa mutante para el gen URA3 que queremos transformar con un plásmido que contiene GFP y el

gen marcador URA3 para poder seleccionar las células transformadas por crecimiento. El objetivo es obtener células de levadura transgénicas que hayan incorporado dicho plásmido.

Tenemos dos plásmidos.

El plásmido 1 contiene:

- GFP fusionada a un gen que codifica una proteína de expresión citoplasmática.
- Gen URA3 para sintetizar uracilo. El uracilo es una molécula esencial para la vida de las células. Nuestra cepa de levaduras es incapaz de producir uracilo por sí misma, y tras la transformación vamos a sembrar las células en un medio SC sin uracilo. Esto nos sirve para seleccionar las células que han adquirido el plásmido, ya que serán las únicas capaces de crecer en un medio sin uracilo.

El plásmido 2 contiene:

- GFP está fusionada a otro gen que se acumula en un lugar específico de la célula: el núcleo. Esto quiere decir que, en estas células transformadas, podremos ver la señal fluorescente en el núcleo, mientras que en las células transformadas con el plásmido 1 debemos ver fluorescencia en todo el citoplasma.
- El gen URA3 como marcador.

Por otra parte tendremos un control de células sin transformar, que son las que transformamos con H₂O en lugar de plásmido. Estas NO crecerán, nos sirven para saber que la transformación ha ido bien sin contaminaciones.

Los alumnos siguieron el siguiente protocolo de transformación:

PROTOCOLO TRANSFORMACIÓN S. CEREVISIAE

TODO EN ESTERILIDAD (CERCA DEL MECHERO DE ALCOHOL)

1. Coger 1 mL del matraz con la pipeta de 1000 μ L (AZUL) y poner en un eppendorf
2. Centrifugar a 5000 rpm 2 minutos
3. Eliminar sobrenadante (fase líquida)
4. Resuspender precipitado de células en 50 μ L de LiAc 0'1 M
5. Añadir 2 μ L de DNA de cadena simple
6. Añadir 2 μ L de 1 de estos componentes:
 - Plásmido 1
 - Plásmido 2
 - Agua (CONTROL)
7. Añadir 240 μ L de PEG 50%; 30 μ L de LiAc 1M; 30 μ L de H₂O estéril
8. Incubar 15 minutos a 30°C
9. Incubar 10 minutos a 42°C
10. Pipetear 200 μ L de suspensión celular y sembrar en placa de siembra SC (-) ura con las asas de plástico

Una vez finalizada la sesión, las placas se conservaron en nevera hasta poder ser preparadas para la visualización.

Jueves 4 de mayo de 2023

Los alumnos visitaron algunas instalaciones de la Facultad de Ciencias Biológicas para poder visualizar los resultados de sus transformaciones. Al llegar a uno de los laboratorios docentes, cada uno preparó un portaobjetos con las levaduras transformantes que habían preparado en la sesión anterior (plásmido 1 ó 2), aquellos que tenían placas control hicieron preparaciones con cualquiera de los 2 plásmidos. Antes de ir al microscopio, los alumnos dibujaron unas predicciones sobre lo que esperaban ver en sus preparaciones.

Fueron subiendo al microscopio en grupos de 4/5 personas, y mientras unos visualizaban, los otros completaban la ficha presente en la Figura 5. Estuvimos contando colonias y explicando conceptos como eficiencia de transformación o unidad formadora de colonia.

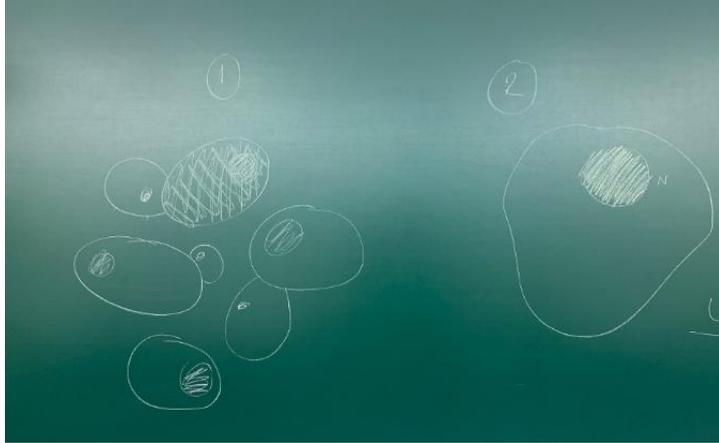


FIGURA 1. Predicción de lo que esperaban observar los alumnos en el microscopio con cada tipo de plásmido.

1	2	C
Cristina	Miriam	Arnau
Laura	Alberto	Sandra
Rocío	Lara	

FIGURA 2. Plásmido o control utilizado por cada alumno

Posteriormente, vieron los siguientes resultados con el microscopio de fluorescencia:

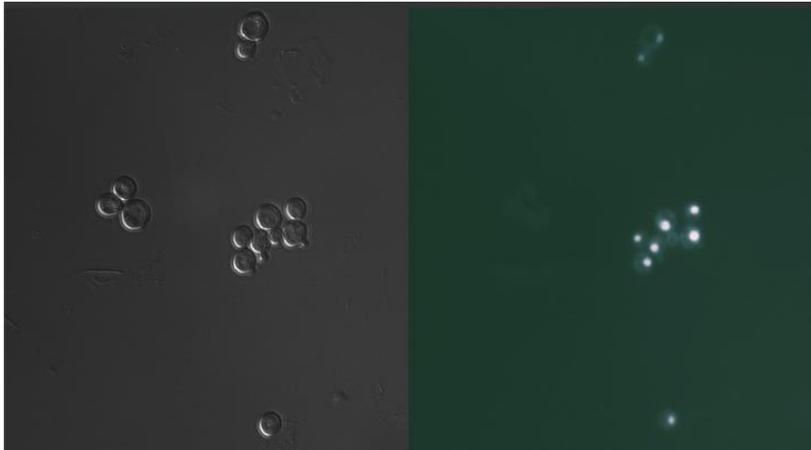


FIGURA 3. Resultados de la transformación con el plásmido 2. A la izquierda se ven las células en el microscopio sin el filtro de fluorescencia (campo claro), y a la derecha se observa la señal fluorescente (GFP) únicamente en el núcleo celular.

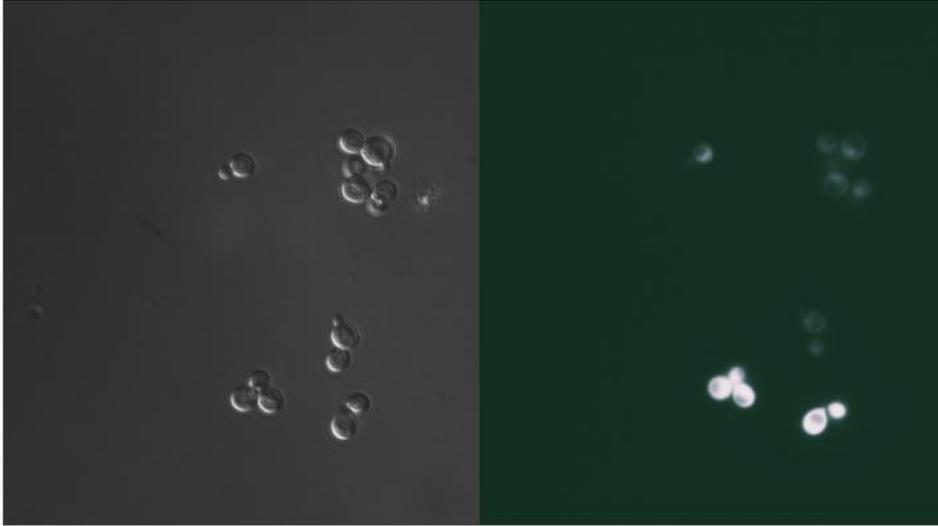


FIGURA 4. Resultados de la transformación con el plásmido 1. A la izquierda se ven las células en el microscopio sin el filtro de fluorescencia (campo claro), y a la derecha se observa la señal fluorescente (GFP) por el citoplasma de las células.

Para finalizar esta sesión, los alumnos realizaron una ficha final en la que contestaron preguntas sobre la transformación. Por otra parte, también realizaron una pequeña evaluación del proyecto.

Projectes Natura 2022-2023

Projectes Natura 2022-2023

Nombre: Fecha:

CUESTIONES SOBRE LA TRANSFORMACIÓN EN *Saccharomyces cerevisiae*

1. Teniendo en cuenta la morfología celular de *S. cerevisiae* y lo observado en el microscopio de fluorescencia. Cuáles creen que son las diferencias entre el plásmido 1 y el plásmido 2?
2. Recordando que nuestras células eran incapaces de sintetizar uracilo por sí mismas (molécula esencial para su desarrollo), ¿por qué tras la transformación las sembramos en medio sin uracilo?
3. La eficiencia de transformación (ET) es un parámetro que nos permite medir el éxito de incorporación de ADN exógeno. Calcula la ET y valora cómo ha ido la transformación, teniendo en cuenta que nosotros añadimos 50 nanogramos de cada plásmido.

Eficiencia de transformación: $\frac{\text{número de unidades formadoras de colonias}}{\text{microgramos de ADN}}$

Nº de unidades formadoras de colonias (ufc): plásmido 1	Nº de unidades formadoras de colonias (ufc): plásmido 2

FIGURA 5. Ficha final para los alumnos de ESO

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD

Rodea un número del 1 al 5 según como de acuerdo estés con las siguientes afirmaciones:

- Me ha gustado la actividad

1	2	3	4	5
Muy en Desacuerdo				Muy de acuerdo

- Recomendarías esta actividad a otras personas

1	2	3	4	5
Muy en Desacuerdo				Muy de acuerdo

- Crees que la actividad se podría mejorar de alguna manera

1	2	3	4	5
Muy en Desacuerdo				Muy de acuerdo

¿Cómo la mejorarías?:

- ¿Qué has aprendido de esta actividad?

Comentarios:

Sábado 6 de mayo de 2023

Tuvo lugar el evento de Expociència, en las instalaciones del Parc Científic. Se llevó a cabo un taller en el que se explicaba de manera concisa y directa la importancia de *Saccharomyces cerevisiae*, tanto en la industria para obtener productos de uso cotidiano, como en investigación científica en cuanto a modelo de célula eucariota. También se explicaron algunos usos de levaduras transgénicas que expresaran proteínas fluorescentes. Los asistentes del taller disponían de panfletos con información básica sobre este microorganismo, además de una ilustración de una célula de levadura que podía servir para colorear para los más pequeños.

Por otra parte, el taller también disponía de placas Petri para sembrar de medio YPD, y levaduras en suspensión líquida para que aquel que lo deseara pudiera sembrar su propia placa de *Saccharomyces cerevisiae* y llevársela a casa. Contábamos con una placa ya sembrada de ejemplo para que los asistentes pudieran ver la morfología colonial de este microorganismo, y también con otras placas que mostraban ejemplos de contaminaciones.

Martes 9 de mayo de 2023

Los alumnos de ESO concretaron las actividades que se realizarán en EP, optando por llevar a cabo una actividad tipo gincana. La propuesta consiste en lo siguiente:

- Realización de una pequeña presentación (10 minutos) sobre las Levaduras. Se tratarán los contenidos sobre: organismos microscópicos, organismos heterótrofos, organismos unicelulares, etc.
- División de la clase de EP en 5 grupos, para que cada grupo pueda empezar en una estación distinta preparada por los alumnos de ESO. Las estaciones son:
 - Estación 1: Levavida. Se muestra el proceso de gemación a través de un modelo (SLIME).
 - Estación 2: Las levaduras hinchan globos. Se lleva a cabo una pequeña experiencia con levadura fresca y azúcar para evidenciar el proceso de fermentación.
 - Estación 3: Seres diminutos. Observar levaduras a través del microscopio óptico.
 - Estación 4: Identificación estructuras/orgánulos celulares en una maqueta realizada por los estudiantes de ESO.
 - Estación 5: La levadura escondida. Juego usos/utilidades de la levadura a través de imágenes.
- Todo el alumnado recibirá una ficha de trabajo para completar a lo largo de las diferentes estaciones. Una vez hayan completado en equipo la pregunta correspondiente a la estación en la que se encuentran, podrán pasar a la siguiente estación. Esta ficha incluirá una pequeña evaluación de la actividad realizada.

5. CONCLUSIONES

Conclusiones de los alumnos:

“He aprendido lo que es una levadura, sus usos, a transformar genéticamente una levadura, he conocido la facultad de biológicas y los laboratorios y no podría estar más encantada con la experiencia”

-Sandra

*“He aprendido sobre *Sachharomyces cerevisiae* y he tenido la oportunidad de verla en microscopio de luz fluorescente”*

-Rocío

Conclusiones de los tutores académicos:

“Viviana es va sentir molt motivada des del primer moment per la idea de dedicar l'esforç del seu TFG a desenvolupar un Projecte Natura. Atesa la dificultat de transferir informacions complexes a alumnes de Secundària, i més encara de Primària, cal posar en valor el treball desenvolupat per l'estudiant. Viviana ha utilitzat diverses metodologies didàctiques per tal de transmetre els continguts i propiciar l'interés de l'alumnat participant. Ha acceptat el repte de posar a punt un protocol experimental que s'havia de dur a terme en les aules de l'Institut, amb una visita posterior a la Facultat per utilitzar el microscopi de fluorescència i visualitzar els resultats de l'experiment. El fet d'haver treballat dins una assignatura optativa centrada en l'experimentació ha facilitat la tasca, però, alhora, ha representat un treball intens cobrir totes les etapes del mètode científic i ensenyar als estudiants no només a realitzar l'experiment sinó a plantejar una hipòtesi i analitzar-ne resultats. Aquest treball s'ha complementat amb la seua posada en escena en Expociència i es culminarà segur amb èxit amb les activitats plantejades per a l'Educació Primària. Viviana ha demostrat la seua capacitat com a docent i divulgadora de la ciència, competències que complementaran segur la seua formació com a biotecnòloga.”

-Carmel Ferragud i Imma Quilis

Conclusiones de la profesora responsable en ESO:

“El alumnado de 4º ESO de la optativa de Experimenta (IES Ramon Muntaner de Xirivella) ha participado en el Proyecto Natura (2022-2023) ofrecido por la Facultad de Biología de la Universidad de Valencia.

Durante el desarrollo del proyecto, nuestro alumnado han tenido la gran oportunidad de aprender conocimientos básicos sobre la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y sus aplicaciones en la Ingeniería Genética, de la mano de la alumna del último curso del Grado en Biotecnología, Viviana Pont.

Sin duda alguna consideramos que ha sido una gran oportunidad para nuestro alumnado formar parte de este Proyecto; ya que, la alumna Viviana Pont les ha permitido, de una manera muy didáctica y motivadora, adentrarse en el mágico mundo de la Biotecnología: introduciendo el concepto de “organismo modelo”; conociendo las diversas aplicaciones y usos de la biotecnología; adquiriendo destrezas en el uso de equipos y material de laboratorio, que habitualmente no tienen en un laboratorio de Ciencias de Secundaria, tales como: micropipetas, placas Petri, ultracentífugas, microscopio de fluorescencia,...

Agradecer a Viviana la flexibilidad horaria para adecuarse al horario de las clases de los alumnos/as con los que ha desarrollado la actividad en el IES Ramon Muntaner; así como, la iniciativa que mostró a la hora de que el alumnado de 4º ESO pudiera visitar los laboratorios de la Facultad para la observación, mediante microscopios de fluorescencia, de los resultados obtenidos tras las transformaciones realizadas a las levaduras.

El proyecto Natura crea equipos interetapa (Universidad, Secundaria y Primaria), de manera que ahora nuestro alumnado de 4º ESO ha diseñado varias experiencias y actividades de laboratorio para explicarle al alumnado de 6º de Primaria del CEIP Cervantes (Xirivella) la importancia de esta levadura como “organismo modelo” en la investigación. Esta parte todavía no se ha podido desarrollar, estando en proceso.

Durante todas las actividades realizadas, observamos que el alumnado se muestra motivado e ilusionado, a pesar de ser un grupo muy heterogéneo formado no sólo por alumnado del área de Ciencias. Todos ellos/as han mostrado una valoración positiva hacia la experiencia.

Respecto a las dificultades encontradas, a la hora de desarrollar el proyecto la mayor dificultad han sido los ajustes en nuestra programación a la hora de la planificación de tiempos para la preparación de materiales, optimización de protocolos, coordinación con la alumna de grado y con el profesorado de Primaria,...

Pese a los ajustes de programación necesarios, sin duda alguna, esta experiencia resulta un lujo para nuestro alumnado de la ESO, permitiéndoles acercarse al mundo de la investigación.

Por nuestra parte, es un proyecto a repetir en próximos cursos. Consideramos que el poder compartir recursos y proyectos a través de diversos niveles educativos enriquece el proceso formativo del alumnado, que de otra forma sería muy difícil conseguir.”

-Amparo Benavenides

6. VALORACIÓN DEL PROYECTO

Projectes Natura es una modalidad de Trabajo de Fin de Grado de la cual no había escuchado hablar hasta que Inma me planteó la posibilidad de realizar este tipo de trabajo, que es completamente distinto a lo que estamos acostumbrados a hacer en un grado como Biotecnología. Nunca me había planteado hacer actividades en el ámbito de docencia ni de comunicación, pero a través de este proyecto he aprendido a desarrollar algunas habilidades relacionadas con estos campos y la verdad que ha resultado ser bastante gratificante.

En cuanto a valoración del proyecto, mi impresión personal es que los conceptos clave que pretendíamos transmitir han sido entendidos de manera eficaz por los estudiantes, con lo cual podría decir que ha sido un éxito. El ámbito de la biotecnología es muy amplio y puede llegar a ser complejo, pero creo que las ideas elegidas en este proyecto han sido accesibles para la gran mayoría de los estudiantes con los que hemos trabajado y que les han aportado conocimientos nuevos de los que no habían escuchado hablar hasta el momento.

Este proyecto ha sido una experiencia muy satisfactoria para mí porque siento que, con la ayuda de todo el equipo que me ha acompañado en este proceso, he sido capaz de salir de la “burbuja académica” en la que me movía como estudiante de biotecnología. A la hora de hablar de ciencia, hasta ahora, estaba acostumbrada a hacerlo con compañeros del grado, con profesores o con gente con cierta formación científica, con lo cual nunca me había visto en la situación de tener que hacer entender conceptos nuevos a un público que nunca había oído hablar de ellos. Me gustaría agradecer en especial a mis tutores académicos, Inma y Carmel, por guiarme a lo largo de este proyecto a transmitir de la manera más eficaz posible los conceptos elegidos. También me gustaría agradecer a Amparo Benavenides, profesora responsable en ESO de la asignatura en la que se desarrolló este proyecto, por su implicación y su ayuda en todo momento.

7. IMÁGENES DEL DESARROLLO DEL PROYECTO



FIGURA 6. IMAGEN DE LA PRIMERA SESIÓN TEÓRICA DE INTRODUCCION EN EL IES RAMON MUNTANER

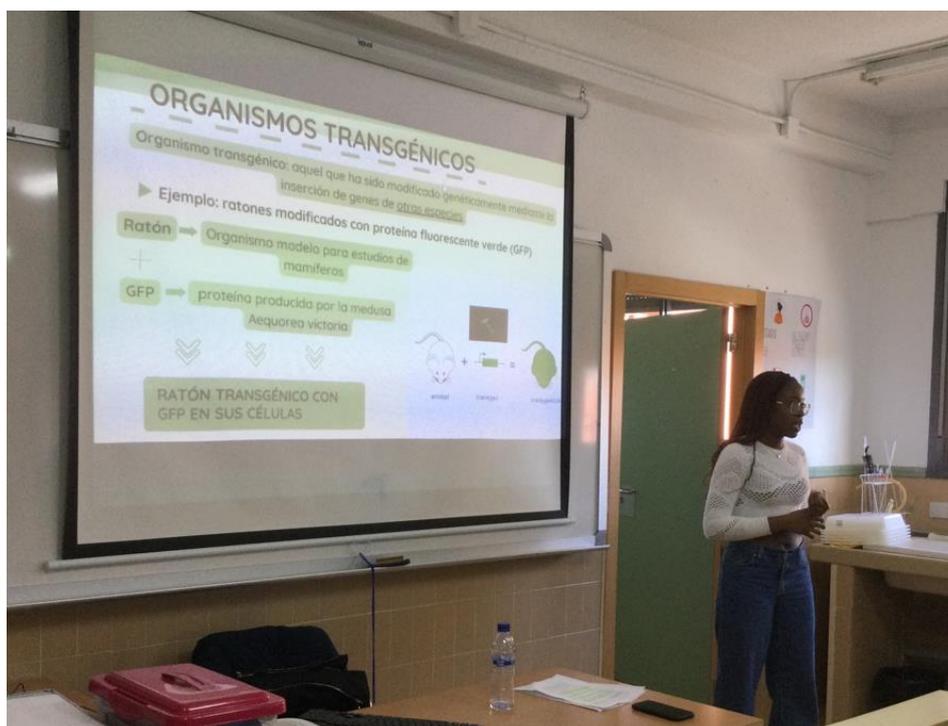


FIGURA 7. IMAGEN DE LA SEGUNDA SESIÓN TEÓRICA EN EL IES RAMON MUNTANER



FIGURA 8. IMAGEN DE LA SESIÓN DE LABORATORIO EN EL IES RAMÓN MUNTANER. ALUMNOS OBSERVANDO EL PELLER DE CÉLULAS DE LEVADURA TRAS LA CENTRIFUGACIÓN



FIGURA 9. IMAGEN DE LA SESIÓN DE LABORATORIO EN EL IES RAMÓN MUNTANER. ALUMNOS APRENDIENDO A TRABAJAR CON LA PIPETA Y EN CONDICIONES DE ESTERILIDAD

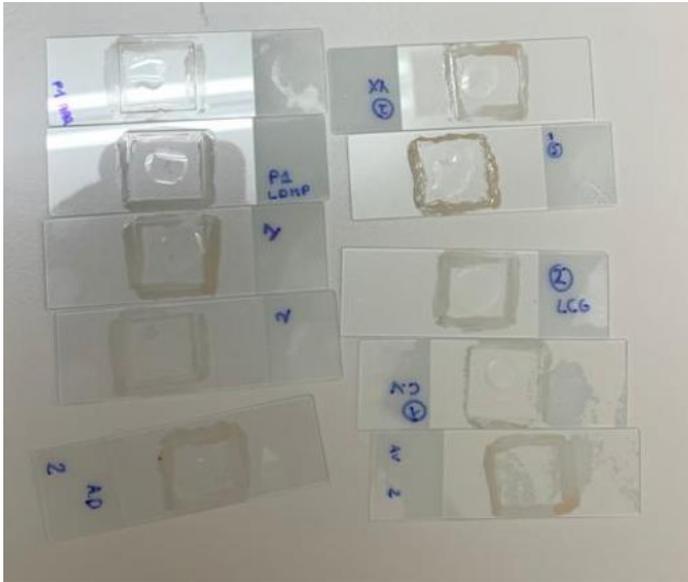


FIGURA 10. PREPARACIONES REALIZADAS POR LOS ALUMNOS PARA LA OBSERVACIÓN DE LEVADURAS EN EL MICROSCOPIO DE FLUORESCENCIA



FIGURA 11. ALUMNAS DE ESO EN LAS INSTALACIONES DE LA FACULTAT DE CIÈNCIES BIOLÒGIQUES PREPARANDO SUS MUESTRAS EN PORTAOBJETOS



FIGURA 12. ALUMNOS DE ESO EN UNO DE LOS LABORATORIOS DOCENTES DE LA FACULTAT DE CIÈNCIES BIOLÒGIQUES

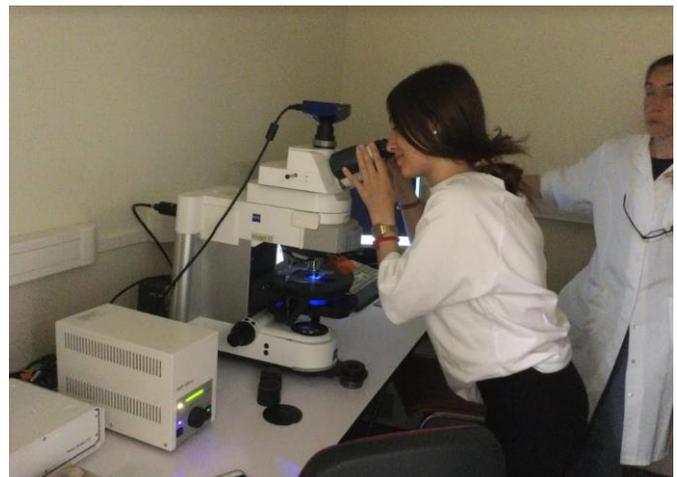


FIGURA 13. ALUMNA DE ESO OBSERVANDO SU TRANSFORMACIÓN CON EL MICROSCOPIO DE FLUORESCENCIA



FIGURA 14. STAND EN EXPOCIENCIA DEL TALLER “EXPLORANDO EL MUNDO DE LAS LEVADURAS: *Saccharomyces cerevisiae* Y TODAS SUS POSIBILIDADES”



FIGURA 15. PEQUEÑA ASISTENTE DEL TALLER COLOREANDO UNA LEVADURA

8. EXPOSICIÓN DE LAS DIFICULTADES PARA DESARROLLAR EL PROYECTO

La principal dificultad a la hora de desarrollar el proyecto ha sido el hecho de que, en la ESO, al llevarse a cabo en una asignatura optativa, había un gran abanico de tipos de estudiante. Aquellos que se encontraban cursando la rama de Ciencias, venían con muchos conceptos ya adquiridos, como por ejemplo en qué consisten los genes, para qué sirven o qué son los organismos transgénicos. Por otra parte, dentro de los que venían de la rama de Humanidades y Ciencias Sociales había muchos que también tenían ciertas nociones básicas, pero también había algunos que todo lo que íbamos a desarrollar era totalmente nuevo para ellos. Finalmente también había algunos alumnos pertenecientes al grupo PMAR, y si que noté en cierto modo que puede que no llegaran a comprender algunos de los conceptos explicados en la clases teóricas, pero mostraron el mismo interés que el resto de sus compañeros a la hora de realizar las actividades en el aula.

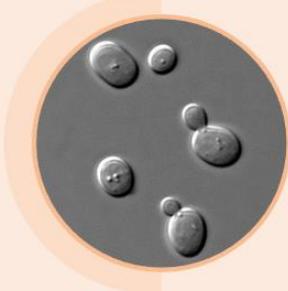
Por otra parte, el hecho de que Expociencia se haya tenido que adelantar este año también ha supuesto una dificultad a la hora de desarrollar el proyecto. Esto es debido a que, en mi caso, hemos tenido que poner a punto los talleres para este evento antes de realizar las actividades con la clase de EP, con lo cual me da la sensación de que para idear estos talleres se me hizo más complicado en cuanto a ideas creativas. En vista de esto, nos hemos visto obligados a partir de cero para crear actividades para niños, mientras que si hubiésemos acudido primero al colegio, podríamos haber hecho algún tipo de adaptación de las actividades realizadas en el CEIP.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Botman, D., de Groot, D. H., Schmidt, P., Goedhart, J., & Teusink, B. (2019, February 19). In vivo characterisation of fluorescent proteins in budding yeast. *Nature News*. <https://www.nature.com/articles/s41598-019-38913-z>
- Fraczek, M. G., Naseeb, S., & Delneri, D. (2018, May). History of genome editing in yeast. *Yeast* (Chichester, England). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5969250/>
- Kaishima, M., Ishii, J., Matsuno, T., Fukuda, N., & Kondo, A. (2016, October 26). Expression of varied gfps in *saccharomyces cerevisiae*: Codon optimization yields stronger than expected expression and fluorescence intensity. *Scientific reports*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5080575/>
- Localization of five TPX-GFP fusion proteins in yeast cell. cells were ... (n.d.). https://www.researchgate.net/figure/Localization-of-five-TPx-GFP-fusion-proteins-in-yeast-cell-Cells-were-transformed-with_fig3_12633055
- Ruiz, E. (2016, January 31). Diferencias Entre Respiración y fermentación. *Academia.edu*. https://www.academia.edu/21342069/DIFERENCIAS_ENTRE_RESPIRACION_Y_FERMENTACION
- SM, B.-F. M. T. (n.d.). A review of fluorescent proteins for use in yeast. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26519321/>
- Yeast sequencing: "Network" genomics and institutional bridges. *Isis Current Bibliography*. (n.d.). https://data.isiscb.org/isis/citation/CBB219354754/?fromsearch=true&query_string=yeast&last_query=%2Fisis%2F%3Fq%3Dyeast%26models%3Disisdata.citation%26sort_order_citation%3Dpublication_date_for_sort%26sort_order_dir_citation%3Ddescend%26sort_order_dir_authority%3Dascend
- Wilhelm. (2018). The Rise Of Yeast: How Civilization Was Shaped By Sugar Fungi. In *The Salt [BLOG]*. NPR.
- [Cómo resolver problemas de Transformación bacteriana?. GoldBio. \(n.d.\). https://goldbio.com/articles/article/Resolver-Problemas-De-Transformacion-Bacteriana#:~:text=La%20eficiencia%20de%20transformaci%C3%B3n%20\(ET,volumen%20conocido%20de%20c%C3%A9lulas%20competentes](https://goldbio.com/articles/article/Resolver-Problemas-De-Transformacion-Bacteriana#:~:text=La%20eficiencia%20de%20transformaci%C3%B3n%20(ET,volumen%20conocido%20de%20c%C3%A9lulas%20competentes)

10. ANEXOS

10.1 ANEXO I. CLASE INTRODUCTORIA



DESCUBRIENDO S. CEREVISIAE Y SU METABOLISMO



PREHISTORIA
Primeras civilizaciones sedentarias "descubren" la cerveza y vino

ANTIGUO EGIPTO
Al echar la espuma de la cerveza al masa del pan
pan esponjoso

SIGLO XVII
Experimentos ópticos de Anton V.L permiten por primera vez la observación de levaduras

SIGLO XIX
Louis Pasteur demuestra que la fermentación es llevada a cabo por levaduras

CARACTERÍSTICAS S. CEREVISIAE

Saccharomyces cerevisiae es un microorganismo unicelular eucariota perteneciente al reino Fungi

USO INDUSTRIAL

Industria alimentaria: producción de alimentos fermentados (cerveza, pan, vino, queso...)

Industria química: síntesis de proteínas recombinantes y productos químicos

Industria combustibles: producción de biocombustibles

USO EN INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

- Uso como **organismo modelo** para estudios de biología molecular y celular
- Uso en ingeniería genética

¿Organismo modelo?

Organismo modelo: aquel que se utiliza como herramienta en la investigación científica para estudiar procesos biológicos y genéticos

- Fáciles de mantener en el laboratorio y de manipular
- Ciclo de vida corto y amplio entendimiento de su biología
- Económico y éticamente aceptado para su uso en experimentación

S. CEREVISIAE

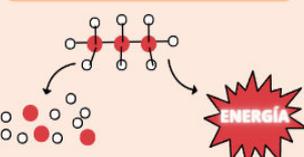
- Crecimiento en cultivo rápido y sencillo
- Se tiene un amplio conocimiento de su genoma
- Muchas similitudes con eucariotas superiores -> estudios con este microorganismos nos dan información sobre nuestras células

METABOLISMO: CONCEPTOS BÁSICOS

Metabolismo: conjunto de procesos bioquímicos que ocurren en los organismos vivos para mantenerse con vida

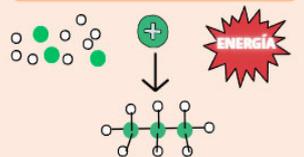
CATABOLISMO

Degradación de moléculas complejas para obtener energía y otros compuestos más simples



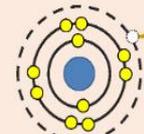
ANABOLISMO

Síntesis de moléculas complejas a partir de moléculas más simples utilizando energía

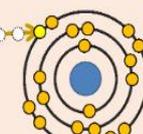


Las reacciones del metabolismo van asociadas a reacciones redox

Oxidación
(átomo pierde un electrón)

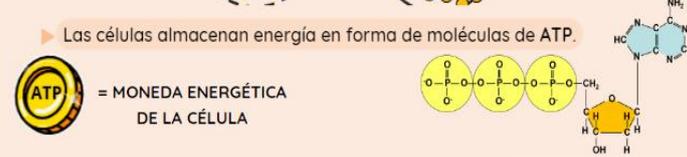


Reducción
(átomo gana un electrón)



Las células almacenan energía en forma de moléculas de ATP.

ATP = MONEDA ENERGÉTICA DE LA CÉLULA





10.2 ANEXO II. INTRODUCCIÓN A LA INGENIERÍA GENÉTICA

INTRODUCCIÓN A LA INGENIERÍA GENÉTICA

OBTENCIÓN DE LEVADURAS TRANSGÉNICAS

REPASO CONCEPTOS BÁSICOS

ADN: molécula compleja presente en el núcleo de las células de los organismos vivos. Responsable de contener la información genética que determina las características físicas y biológicas de los organismos.

Gen: es una secuencia específica de ADN que contiene la información necesaria para la síntesis de una proteína

↓

Los genes sirven para fabricar proteínas que llevarán a cabo una función

INGENIERÍA GENÉTICA

Ingeniería genética: una disciplina de la biotecnología que se enfoca en la manipulación y modificación del ADN de los organismos vivos

OBJETIVO: producir nuevas características deseables que no se encuentran de manera natural en el organismo

En cuanto a modificación genética

OBTENCIÓN DE TRANSGÉNICOS

introducción de genes de otro organismo en el genoma de un organismo vivo para producir características específicas,

ORGANISMOS TRANSGÉNICOS

Organismo transgénico: aquel que ha sido modificado genéticamente mediante la inserción de genes de otras especies

► Ejemplo: ratones modificados con proteína fluorescente verde (GFP)

Ratón → Organismo modelo para estudios de mamíferos

GFP → proteína producida por la medusa *Aequorea victoria*

RATÓN TRANSGÉNICO CON GFP EN SUS CÉLULAS

S. CEREVISIAE COMO TRANSGÉNICO

► **Producción de alimentos fermentados:** La modificación genética puede mejorar la calidad y la consistencia de estos productos. Ejemplo: mejora de la capacidad de fermentación

Gen mejora fermentación

Célula *S. cerevisiae*

→

Ethanol

Aumento de la producción de alcohol (etanol)

► **Producción de proteínas recombinantes:** La inserción del transgen puede mejorar la producción y calidad de las proteínas. Ejemplo: producción de insulina humana

Gen insulina humana

+

Célula *S. cerevisiae*

→

Obtención de grandes cantidades de insulina para consumo humano

Biorremediación: proceso de utilizar organismos vivos para degradar o eliminar contaminantes ambientales

► **Biorremediación:** la inserción del transgén permite que se puedan obtener grandes cantidades de levadura con capacidad detoxificante. Ejemplo: gen detoxificante de metales pesados presente en mamíferos

Gen detoxificante de mamífero → Célula *S. cerevisiae* → [Cd] [Pb]

ORGANISMOS TRANSGÉNICOS: PROS VS. CONTRAS

- **Riesgo para la salud?** Falta de estudios a largo plazo
- **Pérdida de biodiversidad:** compiten con las especies tradicionales
- **Propiedad intelectual:** posibilidad de que solo unos pocos podrían acceder a ellos
- **Mejora nutricional:** producción nutrientes y vitaminas esenciales
- **Fabricación de medicamentos:** obtención de medicinas y proteínas como terapia o tratamiento de enfermedades
- **Sostenibilidad agrícola:** resistentes a condiciones adversas

10.3 ANEXO III. SESIÓN DE LABORATORIO. TRANSFORMACIÓN

PROTOCOLO TRANSFORMACIÓN

1. Coger 1 mL del matraz con la pipeta de 1000 µL (AZUL) y poner en un eppendorf (ROTULAR)
2. Centrifugar a 5000 rpm 2 minutos
3. Eliminar sobrenadante (fase líquida)
4. Resuspender precipitado de células en 50 µL de LiAc 0'1 M
5. Añadir 2 µL de DNA de cadena simple

6. Añadir 2 µL de 1 de los siguientes componentes : - Plásmido 1 - Plásmido 2 - Agua (CONTROL)
7. Añadir 240 µL de PEG 50%; 30 µL de LiAc 1M; 30 µL de H2O estéril
8. Incubar 15 minutos a 30°C
9. Incubar 10 minutos a 42°C
10. Pipetear 200 µL de suspensión celular y sembrar en placa de siembra SC (-) ura con las asas de plástico

OBJETIVO: OBTENCIÓN DE S. CEREVISIAE TRANSGÉNICA
insertamos de forma artificial el gen de la proteína fluorescente verde mediante un plásmido

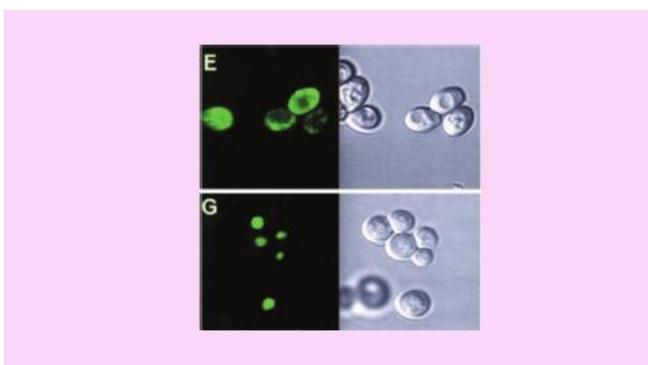
Plásmido: molécula de ADN circular que se utiliza para insertar en células genes de nuestro interés

Competent cells with weakened cell walls are incubated with plasmids at elevated temperatures

Transformed cells are isolated on selective media, where they recover and grow again

ELEMENTOS IMPORTANTES EN LOS PLÁSMIDOS

PLÁSMIDO 1	PLÁSMIDO 2	CONTROL
-GFP -Gen URA3: marcador de selección	-GFP + proteína nuclear -Gen URA3: marcador de selección	-H2O



10.4 ANEXO IV. MATERIAL DE EXPOCIENCIA



FIGURA 16. PANFLETO CON INFORMACIÓN BÁSICA SOBRE S. CEREVISIAE PARA REPARTIR A LOS ASISTENTES DEL TALLER



FIGURA 17. CARTELES TAMAÑO A3 PRESENTES EN EL STAND