

**FICHA IDENTIFICATIVA****DATOS DE LA ASIGNATURA**

**Código:** 33178  
**Nombre:** Métodos en Biología Molecular e Ingeniería Genética  
**Ciclo:** Grado  
**Créditos ECTS:** 4,5  
**Curso académico:** 2025-26

**TITULACIONES**

Titulación	Centro	Curso	Periodo
1111 - Grado en Biotecnología	Facultat de Ciències Biològiques	3	Segundo cuatrimestre

**MATERIAS**

Titulación	Materia	Carácter
1111 - Grado en Biotecnología	Metodología Celular y Molecular	OBLIGATORIA

**COORDINACIÓN**

OLMO MUÑOZ MARCEL LI DEL

ALEPUZ MARTINEZ ELIA PAULA

**RESUMEN**

Con esta asignatura se pretende que los alumnos puedan adquirir los conocimientos conceptuales y metodológicos básicos relativos a:

- (1) Las herramientas básicas para el análisis de ácidos nucleicos.
- (2) Desarrollo de las herramientas básicas para la clonación.
- (3) Caracterización y modificación de secuencias de DNA y manipulación del DNA a gran escala.
- (4) Secuenciación genómica. Combinación de métodos de secuenciación automatizados masivos y técnicas bioinformáticas para abordar la secuenciación de genomas completos.
- (5) Otras técnicas de amplio uso en Biología Molecular como fusiones génicas, métodos de análisis de interacción entre proteínas y entre proteínas y ácidos nucleicos, etc..



## 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

Los estudiantes deberían haber cursado en el cuatrimestre anterior (o en cursos anteriores) la asignatura de Biología Molecular, para poder entender adecuadamente los contenidos de esta materia.

## COMPETENCIAS / RESULTADOS DE APRENDIZAJE

-

Actuar con autonomía en el aprendizaje, tomando decisiones fundamentadas en diferentes contextos, emitiendo juicios en base a la experimentación y el análisis y transfiriendo el conocimiento a nuevas situaciones

Capacidad de análisis, síntesis y razonamiento crítico en la aplicación del método científico

Capacidad para formar parte de equipos multidisciplinares, para el trabajo en equipo y la cooperación

Capacidad para trabajar en el laboratorio incluyendo seguridad, manipulación, eliminación de residuos y registro anotado de actividades

Colaborar eficazmente en equipos de trabajo, asumiendo responsabilidades y funciones de liderazgo y contribuyendo a la mejora y desarrollo colectivo

Conocer las bases químicas y moleculares del funcionamiento celular

Conocer las técnicas básicas que se utilizan para los estudios de expresión génica y para la manipulación del material genético.

Conocer y comprender, desde el propio ámbito de la titulación, las desigualdades por razón de sexo y género en la sociedad; integrar las diferentes necesidades y preferencias por razón de sexo y de género en el diseño de soluciones y resolución de problemas

Contribuir en el diseño, desarrollo y ejecución de soluciones que den respuesta a demandas sociales, teniendo en cuenta como referente los Objetivos de Desarrollo Sostenible

Demostrar razonamiento crítico y autocrítico en el ámbito de la titulación, considerando aspectos tales como la ética profesional, los valores morales y las implicaciones sociales de las diferentes actividades realizadas

Diseñar protocolos de separación, purificación y caracterización de moléculas biológicas

Manejar adecuadamente los equipos y el material propio de un laboratorio de bioquímica y biología molecular

Manejar adecuadamente los equipos y el material propio de un laboratorio de bioquímica y biología



molecular.

Proponer soluciones creativas e innovadoras a situaciones o problemas complejos, propios del ámbito de conocimiento, para dar respuesta a las diversas necesidades profesionales y sociales

Que el estudiantado demuestre su capacidad para calcular correctamente los parámetros relevantes de un proceso o un experimento mediante la representación de los datos experimentales

Saber comunicarse de manera efectiva, tanto de forma oral como escrita, adaptándose a las características de la situación y de la audiencia

Saber realizar análisis de expresión génica.

Saber utilizar la lengua inglesa en la redacción de informes y para interpretar la información a partir de protocolos, manuales y bases de datos

Ser capaz de diseñar protocolos y utilizar las técnicas del DNA recombinante

Ser capaz de diseñar protocolos y utilizar las técnicas del DNA recombinante.

## DESCRIPCIÓN DE CONTENIDOS

### 1. Tema 1. ¿Qué es la tecnología del DNA recombinante?

Introducción histórica. Concepto de DNA recombinante. Concepto de clonación. El impacto de la tecnología del DNA recombinante: emergencia de la biotecnología molecular.

### 2. Temas 2,3. Técnicas generales

Tema 2. TÉCNICAS GENERALES I. Enzimología básica utilizada en la manipulación del DNA. Enzimas de restricción y mapas de restricción. DNA-polimerasas, ligasas, recombinasas y otras enzimas de interés. Precipitación y purificación del DNA. Obtención de plásmidos y otros DNAs.

Tema 3. TÉCNICAS GENERALES II. Hibridación de ácidos nucleicos: Factores que afectan; Etapas del proceso; Métodos de hibridación. Marcaje de sondas: Directo e indirecto; tipos de marca; Métodos de síntesis de una sonda marcada. Síntesis automática de oligonucleótidos. Aplicaciones de los oligonucleótidos sintéticos. Síntesis de genes completos.

### 3. Tema 4. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Características de la PCR: amplificación y especificidad. Reacción básica: diseño de cebadores. Análisis del producto de PCR: clonación y secuenciación directa. PCR reverso. Amplificación de cDNA: RT-PCR. El PCR como herramienta en Ingeniería Genética. PCR cuantitativo. Aplicaciones del PCR en otros campos.



Otros sistemas de amplificación.

#### **4. Temas 5-8. Ingeniería Genética**

Tema 5. CONSTRUCCIÓN DEL DNA QUIMERA. Estrategias de clonación. Unión de moléculas de DNA: unión de extremos cohesivos, unión por adición de prendedores, adaptadores y colas de homopolímeros. Introducción del DNA en células de bacteria: métodos de transformación y transfección.

Tema 6. VECTORES DE CLONACIÓN EN *E. coli*. Características generales de un vector. Plásmidos. Vectores de clonación basados en plásmidos. Fagos. Vectores de clonación basados en el fago M13: vectores de simple cadena. Faguémidos. Vectores de clonación basados en el fago  $\lambda$ . Cósmidos y vectores para grandes insertos. Vectores de expresión en *E. coli*: promotores bacterianos.

Tema 7. CONSTRUCCIÓN DE GENOTECAS. Genotecas genómicas. Genotecas para proyectos de secuenciación. Métodos de síntesis de cDNA. Clones con extremos 3' o 5' de mRNAs. Genotecas de cDNA. Genotecas de cDNA sustraído.

Tema 8. SELECCIÓN DE CLONES. Niveles de selección. Identificación de clones recombinantes. Identificación de un clon específico. Selección directa. Selección mediante técnicas inmunológicas. Selección mediante hibridación con sondas de ácidos nucleicos. Selección por recombinación.

#### **5. Tema 9. Secuenciación del DNA**

Métodos de secuenciación. Secuenciación automática. Estrategias para la secuenciación de un fragmento de DNA.

#### **6. Tema 10. Modificación de la secuencia del DNA**

Mutagénesis *in vitro* del DNA pasajero: deleciones, inserciones y sustituciones. Mutagénesis aleatoria. Mutagénesis dirigida mediante el uso de oligonucleótidos. Técnicas de mutagénesis dirigida basada en la PCR. Mutagénesis insercional al azar y dirigida.

#### **7. Tema 11. Técnicas de estudio de la expresión génica**

Detección y cuantificación del transcrito. Uso de genes reporteros. Identificación de elementos reguladores de la transcripción. Mapeo de mensajeros. Métodos para el análisis individual de la expresión génica. Análisis de la expresión diferencial de genes. Transcripción *in vitro* e *in vivo*. Traducción *in vitro*.

#### **8. Tema 12. Estudio de la interacción entre macromoléculas**

Técnicas de estudio de interacciones DNA-proteína: Cambios de movilidad en gel; Protección al ataque de



nucleasas y agentes químicos *in vitro* e *in vivo*; Interferencia por metilación; Entrecruzamiento con luz UV. Inmunoprecipitación de cromatina. Purificación de proteínas que se unen al DNA. Técnicas de estudio de interacciones RNA-proteína: Ensayo de retardo en gel; Ensayo de protección a modificaciones químicas; Métodos de afinidad; Entrecruzamiento por luz UV; Triple híbrido. Técnicas de estudio de interacciones Proteína-proteína: Purificación de complejos proteicos; Doble híbrido; Coimmunoprecipitación; *Pull-down* de proteínas etiquetadas; Aplicación de proteínas fluorescentes para la detección de interacciones proteicas *in vivo*.

## 9. Prácticas de laboratorio

- 1) Construcción de una genoteca en *Escherichia coli*
- 2) Purificación de una proteína de fusión con GST
- 3) Construcción del mapa de restricción de un plásmido
- 4) Diseño de una estrategia de edición genética mediante CRISPR para la interrupción del gen *ADE2* de la levadura

## VOLUMEN DE TRABAJO (HORAS)

### ACTIVIDADES PRESENCIALES

Actividad	Horas
Teoría	29,00
Laboratorio	16,00
<b>Total horas</b>	<b>45,00</b>

### ACTIVIDADES NO PRESENCIALES

Actividad	Horas
Asistencia a otras actividades	0,00
Elaboración de trabajos individuales o en grupo	0,00
Estudio y trabajo autónomo	0,00
Preparación de clases	20,00
Preparación de actividades de evaluación	30,00
Resolución de casos prácticos	0,00
<b>Total horas</b>	<b>50,00</b>

## METODOLOGÍA DOCENTE

El desarrollo de la asignatura se estructura en base a sesiones teóricas, tutorías personales y sesiones prácticas.



### 1. Sesiones teóricas:

En el apartado de trabajo presencial, se incluyen un total de 26 sesiones de clases teóricas correspondientes a lecciones magistrales, seminarios o clases de cuestiones, de una hora de duración.

Con anterioridad a cada clase, los estudiantes dispondrán de todo el material gráfico significativo que vaya a ser presentado, incluido en la correspondiente página web del *Aula Virtual* de la Universitat de València. De esta forma, se pretende que el estudiante pueda preparar con antelación las clases y pueda seguir las con comodidad, tomando solamente las notas necesarias para su apropiada comprensión.

### 1. 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.

### 1. Actividades prácticas:

Se han programado 4-5 sesiones de 2-4 horas de duración cada una (total de 16 h) sobre diversos aspectos de las técnicas de Biología Molecular y DNA recombinante que no se contemplan en otras asignaturas relacionadas y son adaptables a un laboratorio de prácticas.

## EVALUACIÓN

La asistencia a las prácticas es obligatoria y también lo son la resolución de un cuestionario previo a su realización y la presentación de una memoria al final de las mismas. Al final del curso se realizará un examen para valorar los conocimientos adquiridos en las clases teóricas y prácticas. Sobre la nota final la parte teórica de este examen tendrá un valor del 70%. 20% corresponderá a la valoración de las clases prácticas mediante la memoria de prácticas (1.6 sobre 2) y la resolución del cuestionario previo (0.4 sobre 2). El 10% restante corresponde a actividades que se plantearán a lo largo del curso. Para superar la asignatura es necesario aprobar el examen de teoría, las prácticas y las actividades programadas. Si se aprobaran las prácticas o las actividades pero se suspendiera la teoría, las notas correspondientes se guardarían durante el curso siguiente al que han sido realizadas; a partir de ese momento se tendrían que repetir las prácticas y/o actividades de la evaluación continua.

## BIBLIOGRAFÍA



- PRIMROSE S.B. y TWYMAN R.M. (2006). "Principles of gene manipulation and Genomics." 7ª ed. Blackwell Publishing.
- GREEN, M.R.y SAMBROOK, J. (2012). ¿Molecular Cloning. A laboratory manual¿. 4ª ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press (3 volúmenes).
- AUSUBEL, F.M. et al. (1987-). ¿Current protocols in Molecular Biology¿. John Wiley & sons.
- BROWN, T.A. (2011). ¿Gene cloning and DNA analysis. An introduction¿. 4ª edicion. Ed Blackwell Science
- GLICK, B.R. y PASTERNAK, J.J. (2010). ¿Molecular Biotechnology. Principles and applications of recombinant DNA¿. 4ª Ed. ASM Press.
- GLOVER D. M. y HAMES B.D. (1995). DNA cloning (vol 1, 2, 3, 4). A practical approach. IRL Perss
- IZQUIERDO, M. (1999). Ingeniería genética y transferencia génica. Ed. Pirámide
- KREUZER, H. y MASSEY, A. (1996). ¿Recombinant DNA and Biotechnology. A guide for teachers¿. ASM Press.



- LUQUE, J. y HERRAEZ, A. (2001) Biología Molecular e Ingeniería Genética. Harcourt.
- PERERA, J., TORMO, A. y GARCIA J.L. (2002). Ingeniería genética. Vol.I. y Vol II. Ed. Síntesis.
- WATSON, J.D.; GILMAN, M.; WITKOWSKI, J. y ZOLLER, M. (1992). "Recombinant DNA". 2a ed. Scientific American Books.
- WINNACKER E.L. (ed.) (1987). "From genes to clones". VCH.
- AUSUBEL, F.M. et al. (1987-97). *¿Current protocols in Molecular Biology¿*. John Wiley & sons.
- BIRREN ET AL. (1999). Genome analysis. 4 Volúmenes. Cold Spring Harb. Lab.Press
- DIEFFENBACH, C.W. y DVEKSLER, G.S. (1995). *¿PCR primer. A laboratory manual¿*. Cold Spring Harbor.
- JAIN, M. (2012) *¿Recombinant DNA techniques¿*. Alpha Science International Ltd. Oxford, U.K.
- CLARK, D.P., PAZDERNIK, N.J., MCGEHEE, M.R. (2019) "Molecular Biology". Third Edition. Academic Press (Elsevier), London.

#### PARA CLASES DE LABORATORIO

- MINGARRO, G., DEL OLMO, M. (2023). *¿Improvements in the genetic editing technologies:*



- CRISPR-Cas and beyond. *Gene* 852:147064. doi: 10.1016/j.gene.2022.147064
- SEHGAL, N., SYLVES, M.E., SAHOO, A., CHOW, J., WALKER, S.E., CULLEN, P.J., BERRY, J.O. (2018). ¿CRISPR gene editing in yeast: An experimental protocol for an upper-division undergraduate laboratory course?. *Biochem. Mol. Biol. Educ.* 46:592-601. doi: 10.1002/bmb.21175
  - SHORTT, C., KRIPPAEHNE, E., WASKO, B.M. (2023). A simple and accessible CRISPR genome editing laboratory exercise using yeast. *microPublication Biology*. doi:10.17912/micropub.biology.000699.