

**FITXA IDENTIFICATIVA****DADES DE L'ASSIGNATURA**

Codi: 33178
Nom: Mètodes en biologia molecular i enginyeria genètica
Cicle: Grau
Crèdits ECTS: 4,5
Curs acadèmic: 2025-26

TITULACIONS

| Titulació | Centre | Curs | Període |
|------------------------------|----------------------------------|------|--------------------|
| 1111 - Grau en Biotecnologia | Facultat de Ciències Biològiques | 3 | Segon quadrimestre |

MATÈRIES

| Titulació | Matèria | Caràcter |
|------------------------------|-----------------------------------|-------------|
| 1111 - Grau en Biotecnologia | Metodologia Cel·lular i Molecular | OBLIGATÒRIA |

COORDINACIÓ

OLMO MUÑOZ MARCEL LI DEL

ALEPUZ MARTINEZ ELIA PAULA

RESUM

Amb aquesta assignatura es pretén que els alumnes puguin adquirir els coneixements conceptuals i metodològics bàsics relatius a:

- (1) Les eines bàsiques per a l'anàlisi d'àcids nucleics.
- (2) Desenvolupament de les eines bàsiques per a la clonació.
- (3) Caracterització i modificació de seqüències de DNA i manipulació del DNA a gran escala.
- (4) Seqüenciació genòmica. Combinació de mètodes de seqüenciació automatitzats massius i tècniques bioinformàtiques per abordar la seqüenciació de genomes complets.
- (5) Altres tècniques d'ampli ús en Biologia Molecular com fusions gèniques, mètodes d'anàlisi d'interacció entre proteïnes i entre proteïnes i àcids nucleics, etc ..

CONEIXEMENTS PREVIS**RELACIÓ AMB ALTRES ASSIGNATURES DE LA MATEIXA TITULACIÓ**

No s'ha especificat restriccions de matrícula amb altres assignatures del pla d'estudis.

ALTRES TIPUS DE REQUISITS



Els estudiants haurien d'haver cursat durant el quadrimestre anterior (o en cursos anteriors) l'assignatura de Biologia Molecular, per tal d'entendre adequadament els continguts d'aquesta matèria.

COMPETÈNCIES / RESULTATS D' APRENENTATGE

1102 -

Manejar adequadament els equips i el material propi d'un laboratori de bioquímica i biologia molecular.

Saber realitzar anàlisis d'expressió gènica.

Ser capaç de dissenyar protocols i utilitzar les tècniques del DNA recombinant.

1111 - Grau en Biotecnologia

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

Capacitat d'anàlisi, síntesi i raonament crític en l'aplicació del mètode científic.

Capacitat per a formar part d'equips multidisciplinaris, per al treball en equip i la cooperació.

Capacitat per a treballar en el laboratori incloent seguretat, manipulació, eliminació de residus i registre anotat d'activitats.

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



Proposar solucions creatives i innovadores a situacions o problemes complexos, propis de l'àmbit de coneixement, per a donar resposta a les diverses necessitats professionals i socials

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 usar la llengua anglesa en la redacció d'informes i per a interpretar la informació a partir de protocols, manuals i bases de dades.

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

DESCRIPCIÓ DE CONTINGUTS

1. Tema 1. Què és la tecnologia del DNA recombinant?

Introducció històrica. Concepte de DNA recombinant. Concepte de clonació. L'impacte de la tecnologia del DNA recombinant: emergència de la biotecnologia molecular.

2. Temes 2,3. Tècniques generals

Tema 2. TÈCNIQUES GENERALS I. Enzimologia bàsica utilitzada en la manipulació del DNA. Enzims de restricció i mapes de restricció. DNA-polimerases, lligases, recombinases i altres enzims d'interès. Precipitació i purificació del DNA. Obtenció de plasmidis i altres DNAs.

Tema 3. TÈCNIQUES GENERALS II. Hibridació d'àcids nucleics: Factors que afecten; Etapes del procés; Mètodes d'hibridació. Marcatge de sondes: Directe i indirecte; tipus de marca; Mètodes de síntesi d'una sonda marcada. Síntesi automàtica d'oligonucleòtids. Aplicacions dels oligonucleòtids sintètics. Síntesi de gens complets.

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

Característiques de la PCR: amplificació i especificitat. Reacció bàsica: disseny d'encebadors. Anàlisi del producte de PCR: clonació i seqüenciació directa. PCR revers. Amplificació de cDNA: RT-PCR. El PCR com a eina en enginyeria genètica. PCR quantitatiu. Aplicacions del PCR en altres camps. Altres sistemes d'amplificació.



4. Temes 5-8. Enginyeria Genètica

Tema 5. CONSTRUCCIÓ DEL DNA QUIMERA. Estratègies de clonació. Unió de molècules de DNA: unió d'extrems cohesius, unió per addició de prendedors, adaptadors i cues d'homopolímers. Introducció del DNA en cèl·lules de bacteris: mètodes de transformació i transfecció.

Tema 6. VECTORS DE CLONACIÓ EN *E. coli*. Característiques generals d'un vector. Plasmidis. Vectors de clonació basats en plasmidis. Fags. Vectors de clonació basats en el fag M13: vectors de simple cadena. Faguèmids. Vectors de clonació basats en el fag λ . Còsmids i vectors per a grans inserts. Vectors d'expressió en *E. coli*: promotors bacterians.

Tema 7. Construcció de genoteques. Genoteques genòmiques. Genoteques per a projectes de seqüenciació. Mètodes de síntesi de cDNA. Clons amb extrems 3' o 5' d'mRNAs. Genoteques de cDNA. Genoteques de cDNA substret.

Tema 8. SELECCIÓ DE CLONS. Nivells de selecció. Identificació de clons recombinants. Identificació d'un clon específic. Selecció directa. Selecció mitjançant tècniques immunològiques. Selecció mitjançant hibridació amb sondes d'àcids nucleics.

5. Tema 9. Seqüenciació del DNA

Mètodes de seqüenciació. Seqüenciació automàtica. Estratègies per a seqüenciar un fragment de DNA.

6. Tema 10. Modificació de la seqüència del DNA

Mutagènesi *in vitro* del DNA passatger: delecions, insercions i substitucions. Mutagènesi aleatòria. Mutagènesi dirigida mitjançant l'ús d'oligonucleòtids. Tècniques de mutagènesi dirigida basades en la PCR. Mutagènesi insercional a l'atzar i dirigida.

7. Tema 11. Tècniques d'estudi de l'expressió gènica

Detecció i quantificació del transcrit. Ús de gens reporters. Identificació d'elements reguladors de la transcripció. Mapeig de missatgers. Mètodes per a l'anàlisi individual de l'expressió gènica. Anàlisi de l'expressió diferencial de gens. Transcripció *in vitro* i *in vivo*. Traducció *in vitro*.

8. Tema 12. Estudi de la interacció entre macromolècules

Tècniques d'estudi d'interaccions DNA-proteïna: Canvis de mobilitat en gel; Protecció a l'atac de nucleases i agents químics *in vitro* i *in vivo*; Interferència per metilació; Entrecruament amb llum UV. Immunoprecipitació de cromatina. Purificació de proteïnes que s'uneixen al DNA. Tècniques d'estudi d'interaccions RNA-proteïna: Assaig de retard en gel; Assaig de protecció a modificacions químiques;



Mètodes d'afinitat; Entrecruament per llum UV; Triple híbrid. Tècniques d'estudi d'interaccions Proteïna-proteïna: Purificació de complexos proteics; Doble híbrid; Coinmunoprecipitació; *Pull-down* de proteïnes etiquetades; Aplicació de proteïnes fluorescents per a la detecció d'interaccions proteiques *in vivo*.

9. Pràctiques de laboratori

- 1) Construcció d'una genoteca en *Escherichia coli*.
- 2) Purificació d'una proteïna de fusió amb GST.
- 3) Construcció del mapa de restricció d'un plasmidi.
- 4) Disseny d'una estratègia d'edició genètica mitjançant CRISPR per a la disrupció del gen *ADE2* del llevat.

VOLUM DE TREBALL (HORES)

ACTIVITATS PRESENCIALS

| Activitat | Hores |
|--------------------|--------------|
| Teoria | 29,00 |
| Laboratori | 16,00 |
| Total hores | 45,00 |

ACTIVITATS NO PRESENCIALS

| Activitat | Hores |
|--|--------------|
| Assistència a altres activitats | 0,00 |
| Elaboració de treballs individuals o en grup | 0,00 |
| Estudi i treball autònom | 0,00 |
| Preparació de classes | 20,00 |
| Preparació d'activitats d'avaluació | 30,00 |
| Resolució de casos pràctics | 0,00 |
| Total hores | 50,00 |

METODOLOGIA DOCENT

El desenvolupament de l'assignatura s'estructura en base a sessions teòriques, tutories personals i sessions pràctiques.

1. Sessions teòriques:

En l'apartat de treball presencial, s'inclouen un total de 26 sessions de classes teòriques corresponents a lliçons magistrals, seminaris o classes de qüestions, d'una hora de durada.

Amb anterioritat a cada classe, els estudiants disposaran de tot el material gràfic significatiu que haja de ser presentat, inclòs en la corresponent pàgina web de l'Aula Virtual de la Universitat de València. D'aquesta manera, es pretén que l'estudiant pugui preparar amb antelació les classes i seguir-les amb comoditat, prenent només les notes necessàries per a la seua apropiada comprensió.

**2. Tutories personals:**

La funció de les tutories és ajudar i guiar de forma personal l'estudiant en tots els problemes que puguem sorgir en enfrontar-se a l'estudi de l'assignatura. Faciliten l'intercanvi d'opinions entre el professor i l'estudiant, en un esforç d'aproximació a l'ensenyament individualitzat.

3. Activitats pràctiques:

S'han programat 4-5 sessions de 2-4 hores de durada cadascuna (total de 16 h) sobre diversos aspectes de les tècniques de Biologia Molecular i DNA recombinant que no es contemplen en altres assignatures relacionades i són adaptables a un laboratori de pràctiques.

AVALUACIÓ

L'assistència a les pràctiques és obligatòria i també ho són la resolució d'un qüestionari previ a la seua realització i la presentació d'una memòria al final de les mateixes. Al final del curs es realitzarà un examen per valorar els coneixements adquirits en les classes teòriques i pràctiques. Sobre la nota final la part d'aquest examen corresponent a teoria valdrà un 70%. 20% correspondrà a la valoració de les classes pràctiques mitjançant la memòria de pràctiques (1.6 sobre 2) i el qüestionari previ (0.4 sobre 2). L'altre 10% correspon a activitats que es plantejaren al llarg del curs. Per tal d'aprovar l'assignatura és necessari aprovar l'examen de teoria, les pràctiques i les activitats programades. Si s'aproven les pràctiques o les activitats però se suspengués la teoria, les notes corresponents es guardarien durant el curs següent al qual han sigut realitzades, però a partir d'aquest moment s'hauria de repetir les pràctiques i/o activitats de l'avaluació contínua.

BIBLIOGRAFIA

- PRIMROSE S.B. y TWYMAN R.M. (2006). "Principles of gene manipulation and Genomics." 7^a ed. Blackwell Publishing.
- GREEN, M.R.y SAMBROOK, J. (2012). ¿Molecular Cloning. A laboratory manual¿. 4^a 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¿*. 4^a ediction. Ed Blackwell Science
- GLICK, B.R. y PASTERNAK, J.J. (2010). *¿Molecular Biotechnology. Principles and applications of recombinant DNA¿*. 4^a 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.

PER A CLASSES DE LABORATORI

- 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.