

GUÍA DOCENTE**DENOMINACIÓN DE LA ASIGNATURA**

Denominación: **TÉCNICAS BÁSICAS DEL DNA RECOMBINANTE**
Código: 103076
Plan de estudios: **MÁSTER UNIVERSITARIO EN BIOTECNOLOGÍA** Curso: 1
Créditos ECTS: 4.0 Horas de trabajo presencial: 30
Porcentaje de presencialidad: 30.0% Horas de trabajo no presencial: 70
Plataforma virtual: <http://www3.uco.es/moodle/>

DATOS DEL PROFESORADO

Nombre: MOYANO CAÑETE, ENRIQUETA (Coordinador)
Departamento: BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR
Área: BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR
Ubicación del despacho: Edf. C6. Planta 2ª. Campus de Rabanales
E-Mail: bb2mocae@uco.es Teléfono: 957218895

Nombre: LUQUE ALMAGRO, VICTOR MANUEL
Departamento: BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR
Área: BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR
Ubicación del despacho: Edf. C6. Planta 1ª. Campus de Rabanales
E-Mail: b42lualv@uco.es Teléfono: 957218318

Nombre: MICHAN DOÑA, CARMEN MARIA
Departamento: BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR
Área: BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR
Ubicación del despacho: Edf. C6. Planta 2ª. Campus de Rabanales
E-Mail: bb2midoc@uco.es Teléfono: 957218082

Nombre: RUIZ ROLDÁN, MARÍA DEL CARMEN
Departamento: GENÉTICA
Área: GENÉTICA
Ubicación del despacho: Edf C5.Planta 1ª. Campus de Rabanales
E-Mail: ge2rurom@uco.es Teléfono: 957218981

Nombre: SÁEZ MELERO, LARA PALOMA
Departamento: BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR
Área: BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR
Ubicación del despacho: Edf. C6. Planta 1ª. Campus de Rabanales
E-Mail: bb2samel@uco.es Teléfono: 957218318

Nombre: SÁNCHEZ LÓPEZ BERGES, MANUEL
Departamento: GENÉTICA
Área: GENÉTICA
Ubicación del despacho: Edf C5.Planta 1ª. Campus de Rabanales
E-Mail: ge2snlpm@uco.es Teléfono: 957218981

GUÍA DOCENTE**REQUISITOS Y RECOMENDACIONES****Requisitos previos establecidos en el plan de estudios**

Ninguno.

Recomendaciones

Tener conocimientos de español e inglés.

COMPETENCIAS

- CB10 Que los estudiantes posean las habilidades de aprendizaje que les permitan continuar estudiando de un modo que habrá de ser en gran medida autodirigido o autónomo.
- CB6 Poseer y comprender conocimientos que aporten una base u oportunidad de ser originales en el desarrollo y/o aplicación de ideas, a menudo en un contexto de investigación
- CB7 Que los estudiantes sepan aplicar los conocimientos adquiridos y su capacidad de resolución de problemas en entornos nuevos o poco conocidos dentro de contextos más amplios (o multidisciplinares) relacionados con su área de estudio
- CB8 Que los estudiantes sean capaces de integrar conocimientos y enfrentarse a la complejidad de formular juicios a partir de una información que, siendo incompleta o limitada, incluya reflexiones sobre las responsabilidades sociales y éticas vinculadas a la aplicación de sus conocimientos y juicios
- CB9 Que los estudiantes sepan comunicar sus conclusiones y los conocimientos y razones últimas que las sustentan a públicos especializados y no especializados de un modo claro y sin ambigüedades
- CE1 Sentirse comprometido con la Biotecnología para mejorar el bienestar (salud, economía, medioambiente) de la Sociedad
- CE10 Sentirse comprometido con la investigación como herramienta para fomentar los avances biotecnológicos que contribuyan al bienestar de las personas y la sostenibilidad de su entorno.
- CE12 Conocer y comprender las técnicas y metodologías biotecnológicas de aplicación en Investigación Biomédica y Sanitaria, y adquirir el dominio y habilidades suficientes para su aplicación en la resolución de nuevos retos en la investigación en Biomedicina.
- CE13 Capacidad de integrar conocimientos básicos y biotecnológicos, aplicaciones, servicios y sistemas con carácter generalista para su aplicación en el ámbito industrial en un entorno de gestión medioambiental sostenible.
- CE14 Conocimiento de las sinergias e integración de las metodologías moleculares, genómicas y proteómicas en la identificación de biomarcadores moleculares para la monitorización de la calidad ambiental y sus efectos sobre los seres vivos.
- CE2 Comprensión sistemática y dominio de las habilidades, métodos de investigación y técnicas relacionados con la Biotecnología.
- CE3 Capacidad de interpretar y comprender textos científicos y técnicos especializados en el área de la Biotecnología.
- CE4 Saber utilizar y valorar las fuentes de información, herramientas informáticas y recursos electrónicos para la elección y uso de las diferentes aproximaciones metodológicas en Biotecnología.
- CE5 Poseer formación científica avanzada, multidisciplinar e integradora en el área de la Biotecnología, orientada a la investigación básica y aplicada y al desarrollo de productos, bienes y servicios en base a la manipulación selectiva y programada de los procesos celulares y biomoleculares.
- CE7 Capacidad de comunicar de manera eficaz los avances dentro del ámbito de la Biotecnología, así como sus implicaciones éticas y sociales, tanto a expertos como a un público no especializado.
- CE9 Adquirir conocimientos generales sobre las técnicas básicas para la selección y mejora biotecnológicos de microorganismos, plantas, y animales o enzimas obtenidos de ellos.

GUÍA DOCENTE

CG1	Ser capaz de comprender y aplicar los modelos y métodos avanzados de análisis cualitativo y cuantitativo en el área de la materia correspondiente.
CG2	Capacidad para comprender y aplicar la responsabilidad ética, la legislación y la deontología profesional de la actividad de la profesión
CG3	Poseer las habilidades de aprendizaje que les permitan realizar un análisis crítico, evaluación y síntesis de ideas nuevas.
CG4	Saber identificar preguntas de investigación y darles respuesta mediante el desarrollo de un proyecto de investigación
CG5	Capacidad de fomentar, en contextos académicos y profesionales, el avance tecnológico, social o cultural dentro de una sociedad basada en el conocimiento
CG6	Saber analizar e interpretar los resultados obtenidos con el objeto de obtener conclusiones biológicas relevantes a partir de los mismos.
CG7	Poseer una base formativa sólida tanto para iniciar una carrera investigadora a través de la realización del Doctorado como para desarrollar tareas profesionales especializadas en el ámbito de la Biotecnología que no requieran del título de Doctor.
CG8	Capacidad para comprender y aplicar la responsabilidad ética, la legislación y la deontología profesional de la actividad de la profesión
CT1	Demostrar la capacidad de concebir, diseñar, y desarrollar un proyecto integral de investigación, con suficiente solvencia técnica y seriedad académica.
CT2	Capacidad de fomentar, en contextos académicos y profesionales, el avance tecnológico, social o cultural dentro de una sociedad basada en el conocimiento
CT3	Poseer las siguientes capacidades y habilidades: análisis y síntesis, organización y planificación, comunicación oral y escrita, resolución de problemas, toma de decisiones, trabajo en equipo, razonamiento crítico, aprendizaje autónomo, creatividad, capacidad de aplicar los conocimientos teóricos en la práctica, uso de Internet como medio de comunicación y como fuente de información.
CT4	Actuar profesionalmente desde el respeto y la promoción de los derechos humanos, los principios de accesibilidad universal de las personas con discapacidad, el respeto a los derechos fundamentales de igualdad y de acuerdo con los valores propios de una cultura de paz y valores democráticos.

OBJETIVOS

Adquirir los conocimientos básicos, tanto a nivel teórico como práctico, para su iniciación en la utilización de las principales técnicas de genómica y de ingeniería genética.

Conocer las técnicas de clonación, hibridación de ácidos nucleicos, PCR y mutagénesis dirigida, expresión heteróloga de genes para proteínas recombinantes.

Adquirir la capacidad de aplicación de técnicas básicas en diferentes muestras biológicas.

CONTENIDOS

1. Contenidos teóricos

Módulo 1: Clonación

1. Qué es la clonación
2. Estrategias de clonación de ADN
 - 2.1. Obtención del ADN: Amplificación de fragmentos ADN genómico (PCR). Obtención de fragmentos mediante enzimas de restricción
 - 2.2. Vectores de clonación
 - 2.3. Organismos hospedadores
 - 2.4. Métodos de transformación
 - 2.5. Selección de las células transformadas
3. Aplicaciones de la clonación



GUÍA DOCENTE

Módulo 2: Hibridación de ácidos nucleicos

1. Fundamentos de la hibridación de ácidos nucleicos
2. Tipos de técnicas de hibridación
3. Etapas y factores que afectan a la hibridación
4. Ventajas e inconvenientes de los diferentes tipos de membranas y de marcaje de la sonda
5. Kits comerciales

Módulo 3: Mutagénesis dirigida y expresión génica. Expresión de proteínas recombinantes.

1. Mutagénesis dirigida
 - 1.1. Introducción
 - 1.2. Tipos de mutagénesis
 - 1.3. Descripción de algunos sistemas de mutagénesis dirigida
2. Expresión génica
 - 2.1. Conceptos de expresión homóloga y heteróloga
 - 2.2. Estudio de promotores mediante técnicas tradicionales de biología molecular
 - 2.3. Fusión de genes informadores (fusiones transcripcionales y traduccionales)
 - 2.4. Fusión de marcadores
 - 2.5. Expresión heteróloga de proteínas

2. Contenidos prácticos

Módulo 1:

Clonación de un fragmento de ADN genómico en *Escherichia coli*.

1. Ligación del fragmento de interés en el vector pGEM-T.
2. Transformación de la bacteria *Escherichia coli*.
3. Selección y análisis de los transformantes
 - 3.a Amplificación del fragmento mediante PCR de colonia
 - 3.b Análisis de los tamaños de los plásmidos recombinantes mediante electroforesis en gel de agarosa.

Clonación de un fragmento de ADNc en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

1. Clonación de un fragmento de ADNc mediante recombinación homóloga "in vivo".
2. Transformación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.
3. Selección y análisis de los transformantes.

Módulo 2:

Realización de un Southern blot.

1. Fraccionamiento de una muestra de DNA mediante electroforesis en gel de agarosa.
2. Transferencia de la muestra de DNA a un filtro de nailon.
3. Preparación de una sonda de DNA marcada con digoxigenina.
4. Proceso de hibridación, lavados y detección de la señal.

Módulo 3:

Expresión homóloga y heteróloga de proteínas recombinantes.

1. Diseño de primers para estudios de expresión heteróloga.
2. Fraccionamiento subcelular.
3. Purificación de proteínas recombinantes mediante cromatografía de afinidad.
4. Separación de proteínas mediante electroforesis SDS-PAGE.
5. Detección de las proteínas recombinantes mediante Western-blot.
6. Ensayos enzimáticos con las fracciones purificadas.

GUÍA DOCENTE

OBJETIVOS DE DESARROLLO SOSTENIBLE RELACIONADOS CON LOS CONTENIDOS

Salud y bienestar

Industria, innovación e infraestructura

METODOLOGÍA

Aclaraciones

Al comenzar la asignatura el alumno dispondrá de todo el material necesario (explicación y planificación del curso, bibliografía, contenido de explicaciones teóricas, protocolos prácticos, etc) en el aula virtual de la UCO (<http://www3.uco.es/moodle>)

Clases teóricas: se impartirán en el aula mediante clases magistrales en las que se desarrollará los diferentes temas, profundizando en los conceptos básicos para la realización posterior de las prácticas correspondientes. Los alumnos completarán estas clases con la consulta de la bibliografía recomendada para cada tema en particular.

Clases prácticas: se impartirán en grupos reducidos en los laboratorios del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y del Departamento de Genética de la UCO. Las prácticas de uno de los grupos de los módulos 1 y 2 se impartirán preferentemente en inglés.

La asistencia a las clases prácticas de los tres módulos será obligatoria.

Actividades presenciales

Actividad	Total
Actividades de evaluación	1
Laboratorio	25
Lección magistral	4
Total horas:	30

Actividades no presenciales

Actividad	Total
Consultas bibliográficas	12
Ejercicios	8
Estudio	50
Total horas:	70

GUÍA DOCENTE**MATERIAL DE TRABAJO PARA EL ALUMNO**

Cuaderno de Prácticas
Presentaciones PowerPoint
Referencias Bibliográficas

EVALUACIÓN

Instrumentos	Porcentaje
Actitud y participación	20%
Pruebas de respuesta corta	20%
Pruebas de respuesta larga (desarrollo)	60%

Periodo de validez de las calificaciones parciales:

Se guardará el porcentaje de las pruebas de respuesta corta y la correspondiente a la actitud y participación hasta que se supere la asignatura

Aclaraciones:

Para superar la asignatura será necesario alcanzar un 50% del total y obtener al menos el 40% en todos los instrumentos de evaluación.

La actitud y participación y las pruebas respuesta corta se utilizarán como evaluación continua. Durante el desarrollo de cada uno de los tres módulos se utilizaran estos instrumentos de evaluación que ponderarán de modo global en la clasificación final. Las pruebas de respuestas larga (desarrollo) corresponden al examen final.

Aclaraciones:**BIBLIOGRAFIA****1. Bibliografía básica**

- Ausubel FM, Brent R., Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith JA, Struhl K. eds. Current Protocols in Molecular Biology. Vol 1, 2 & 3. Green Publishing Associates & John Wiley. 2004
- Green MR y Sambrook J (2012). Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4th ed, Vols 1-3. Cold Spring Harbor Laboratory Press (New York, USA)
- Brown TA. Gene Cloning and DNA Analysis. An Introduction. 7th Edition. Wiley-Blackwell Science. 2016
- Glick BR, Pattern CL. Molecular Biotechnology Principles and Applications of Recombinant DNA. 5th Edition. ASM Press. 2017
- Wilson K & Walker J. Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology. 8th Edition. Cambridge University Press. 2018
- Maddocks S and Jenkins R. Understanding PCR. A Practical Bench-Top Guide. 1st Edition. Elsevier. 2016.
- Newton CR and Graham A. PCR. 2nd ed. Bios. Sci. Publ., Springer-Verlag. 1997

GUÍA DOCENTE

2. Bibliografía complementaria

-DIG DNA labelling and detection kit. Roche Molecular Biochemicals.

Las estrategias metodológicas y el sistema de evaluación contempladas en esta Guía Docente serán adaptadas de acuerdo a las necesidades presentadas por estudiantes con discapacidad y necesidades educativas especiales en los casos que se requieran.