

PRONTUARIO

TÍTULO:	Técnicas en ADN recombinante
CODIFICACIÓN:	BIO 360
PRERREQUISITO:	BIO 206, BIO 223 y BIO 225
CRÉDITOS:	3 créditos 45 horas contacto 1 término

DESCRIPCIÓN

Este curso introduce los principios y aplicaciones de la tecnología de recombinación del ADN en microorganismos, animales y plantas. Describe el uso de productos creados por ingeniería genética para el mejoramiento del ambiente y la salud humana. Incluye actividades de laboratorio en técnicas relacionadas. Va dirigido hacia aquellos estudiantes que están interesados en proseguir profesiones asociadas a la biotecnología molecular, la investigación biomédica y farmacológica.

JUSTIFICACIÓN

La biotecnología resulta de las aplicaciones que se derivan de los conocimientos en las áreas de la Biología Celular y Molecular que aportan significativamente a la investigación científica y a los procesos productivos en industrias asociadas a la salud y el ambiente. El creciente impacto de la biotecnología sobre la sociedad hace necesario que ésta rama de la Biología Molecular forme parte de la formación de aquellos estudiantes que interesen incorporarse a estos procesos.

COMPETENCIAS

El curso desarrolla en el o la estudiante las siguientes competencias:

- **Cuestionamiento crítico**
- **Emprendimiento e innovación**
- **Investigación y exploración**

- **Comunicación**
- **Sentido ético y justicia social**

OBJETIVOS

Al finalizar el curso el o la estudiante será capaz de:

1. Reconocer los fundamentos de la genética molecular y sus aplicaciones a la biotecnología moderna.
2. Conocer y explicar los principios que sirven de base para el desarrollo de las tecnologías de ADN recombinante.
3. Describir las metodologías y aplicaciones comunes de estas tecnologías en microorganismos, animales y plantas.
4. Describir las metodologías y aplicaciones comunes de estas tecnologías en investigaciones biomédicas y los proyectos del genoma de humanos y animales.
5. Desarrollar destrezas prácticas en el uso de algunas técnicas e instrumentos asociados.
6. Reconocer y discutir las implicaciones éticas de la utilización de estas tecnologías.

CONTENIDO

- I. Trasfondo sobre biotecnología y técnicas de manipulación del ADN
 - A. Definición de biotecnología y biotecnología moderna
 - B. Procesos biotecnológicos
 - C. Métodos de secuenciación de ADN y sus aplicaciones
 - D. Como identificar y aislar genes de interés
 - E. Técnicas de “Poly Chain Reaction (PCR)”y “Reverse Transcription-PCR”
 - F. Métodos de utilizar sondas moleculares, “Southern blots”, Northern blots”, autoradiografías y sondas no-radioactivas
 - G. Repaso de cultivos celulares de bacterias, levaduras, células animal y vegeta
- II. Técnicas para recombinar y clonar ADN
 - A. Funciones y usos de las endonucleasas bacteriales de restricción
 - B. Métodos de recombinar ADN y clonar genes
 - C. Utilización de vectores para la clonación y transfección celular
 - D. Métodos de transformación celular y selección de los recombinantes
 - E. Los distintos tipos de genes reporteros y sus aplicaciones
 - F. Técnicas utilizadas en la producción de bibliotecas genómicas o de ADN complementario (cDNA)
 - G. Proteínas como productos biotecnológicos. Producción, extracción y purificación de proteínas.
- III. Transformación Celular y Animales Transgénicos
 - A. Aplicaciones de la ingeniería genética en la producción de proteínas

- humanas y la producción de vacunas.
 - B. Técnicas de transferencias directas a células.
 - C. Técnicas de transferencias de genes en animales y sus aplicaciones
 - D. Animales transgénicos u sus aplicaciones
 - E. Métodos y aplicaciones de técnicas de ingeniería genética en plantas
 - F. Aspectos éticos asociados a las aplicaciones de la utilización de la ingeniería genética en la producción de alimentos
- IV. Recombinación, interferencia y terapia genética
- A. Los proyectos genómicos en humanos y animales
 - B. Detección de genes asociados a condiciones congénitas
 - C. Técnicas de recombinación homóloga y “gene knockout”
 - D. Terapia genética y sus aplicaciones
 - E. “DNA fingerprint”
 - F. Los “siRNA” o RNA de interferencia
 - G. Técnica de “DNA microarray”

ACTIVIDADES DE LABORATORIO

- A. Actividad de simulación de secuenciación del ADN y bioinformática. Discusión de las técnicas de secuenciación del ADN. Determinación de la secuencia de segmentos de ADN en autoradiografías previamente preparadas por Edvotek o cualquier otra empresa educativa. Buscar a qué genes pertenecen esas secuencias y las proteínas para las que codifican. Se utilizan los archivos del “National Center for Biotechnology (NCBI- BLAST)”.
- B. Producción de ADN recombinante. Ligación y clonación en bacterias de un gen recombinante para una enzima anti-kanamycin, utilizando un plasmidio bacterial. Corroboración de la ligación mediante electroforesis de agarosa para ADN. Determinación del tamaño en pares de bases de cada fragmentos de ADN utilizando “Molecular DNA Standards”. Se utiliza el uso del programa Excel para análisis de datos y producción de los gráficos.
- C. Transfección de bacterias con el ADN recombinante para introducir el gen para resistencia a kanamycin. Verificar la expresión del gen clonado mediante medios selectivos de crecimiento.
- D. Extracción del ADN recombinante y corte con enzimas de restricción del plasmidio clonado. Verificar la presencia del plasmidio y el gen recombinante con electroforesis de agarosa para ADN.
- E. Transfección de bacterias con ADN recombinante para introducir el gen reportero “green fluorescent protein (GFP)”.
- F. Detección de la expresión del gen reportero (“GFP”) transfectado en las bacterias en medio selectivo con ampicilin. Extracción y purificación de la proteína “GFP” mediante cromatografía de columna y electroforesis de SDS-poliacrilamida.
- G. Determinación de pesos moleculares de proteínas desconocidas incluyendo el “GFP” mediante el uso de electroforesis de poliactilamida con SDS, utilizando “Molecular Weight Protein Standards”. Además la determinación de concentraciones de proteínas a través del uso de la espectrofotometría. Se utiliza el uso del programa Excel para análisis de datos y producción de los

gráficos.

- H. Extracción de ADN e identificación por "PCR" de alimentos y plantas modificados genéticamente mediante el uso de "primers" para los promotores CaMV/35S y NOS. Corroboración de los positivos o negativos mediante electroforesis de agarosa para ADN.

METODOLOGÍA

Se recomiendan las siguientes estrategias de la metodología de aprendizaje activo:

- Conferencias y discusiones de los temas del curso integradas con actividades de laboratorio para desarrollar destrezas en técnicas en biología molecular con una amplia base teórica.
- El énfasis del curso es aprender mediante el trabajo manual directo de los estudiantes con las técnicas e instrumentos utilizados en biotecnología.

EVALUACIÓN

Examen parcial de teoría	20%
Informes de Laboratorio	40%
Asistencia	20%
Examen final de técnicas	<u>20%</u>
Total	100%

AVALÚO DEL APRENDIZAJE

Se aplica la rúbrica de avalúo institucional a la actividad central del curso.

BIBLIOGRAFÍA

TEXTO

William J. Thieman and Michael A. Palladino. (2009). Introduction to Biotechnology, 2nd Edition, Pearson Benjamin Cummings. ISBN: 978-0-321-49145-9

REFERENCIAS

Antonio Benítez Burraco, Avances recientes en biotecnología vegetal e ingeniería genética de plantas / Barcelona : Editorial Reverté, (2005)

Helen Kreuzer, Adrienne Massey, ADN recombinante y biotecnología : guía para estudiantes /; traducción, María Isabel Mora Kreuzer, Helen. 2a ed. Zaragoza :

Editorial Acribia, (2003)

Recursos Internet

National Center for Biotechnology Information (BLAST), www.ncbi.nlm.nih.gov

Biotechnology Classroom Protocols

http://www.nal.usda.gov/bic/Education_res/protocols/

Bio Protocols Online

<http://www.bio.com/protocolstools/index.jhtml>

Practical Protocols

www.ncbe.reading.ac.uk/ncbe/protocols/menu.html

Puede encontrar más recursos de información relacionados a los temas del curso en la página de la biblioteca <http://biblioteca.sagrado.edu/>

ACOMODO RAZONABLE

Para obtener información detallada del proceso y la documentación requerida, debe visitar la oficina correspondiente. Para garantizar igualdad de condiciones, en cumplimiento de la Ley ADA (1990) y el Acta de Rehabilitación (1973), según enmendada, todo estudiante que necesite servicios de acomodo razonable o asistencia especial deberá completar el proceso establecido por la Vicepresidencia de Asuntos Académicos.

INTEGRIDAD ACADÉMICA

Esta política aplica a todo estudiante matriculado en la Universidad del Sagrado Corazón para tomar cursos con o sin crédito académico. Una falta de integridad académica es todo acto u omisión que no demuestre la honestidad, transparencia y responsabilidad que debe caracterizar toda actividad académica. Todo estudiante que falte a la política de honradez, fraude y plagio se expone a las siguientes sanciones: recibirá nota de cero en la evaluación y/o repetición del trabajo en el seminario, nota de F(*) en el seminario: suspensión o expulsión según se establece en el documento de Política de Integridad Académica con fecha de efectividad de noviembre 2022.

CURSOS DE INVESTIGACIÓN

“Este curso puede requerir que los estudiantes practiquen tareas relacionadas al proceso de investigación, tales como: toma de consentimiento o asentimiento informado, administración de instrumentos, realización de entrevistas, observaciones o grupos focales, entre otros. Estas tareas son parte de un ejercicio académico y no se utilizara la información recopilada para compartirla con terceros o divulgarla en otros escenarios que no sean el salón de clases junto al profesor que enseña el curso. Todo estudiante que vaya a interactuar con sujetos humanos como parte de su práctica en investigación tiene que estar certificado en ética con sujetos humanos en la investigación por el *Collaborative Institutional Training Initiative (CITI Program)*, al igual que su profesor”.

Derechos reservados | Sagrado | Noviembre, 2022 (2011)