



Universitat de Lleida

GUIA DOCENT

# BIOTECNOLOGIA VEGETAL

Coordinació: BASSIÉ , LUDOVIC

Any acadèmic 2019-20

## Informació general de l'assignatura

<b>Denominació</b>	BIOTECNOLOGIA VEGETAL		
<b>Codi</b>	101621		
<b>Semestre d'impartició</b>	1R Q(SEMESTRE) AVALUACIÓ CONTINUADA		
<b>Caràcter</b>	Grau/Màster	Curs	Caràcter
	Grau en Biotecnologia	3	OBLIGATÒRIA
<b>Modalitat</b>	Presencial		
<b>Nombre de crèdits assignatura (ECTS)</b>	6		
<b>Tipus d'activitat, crèdits i grups</b>	<b>Tipus d'activitat</b>	PRALAB	TEORIA
	<b>Nombre de crèdits</b>	2.5	3.5
	<b>Nombre de grups</b>	4	1
<b>Coordinació</b>	BASSIÉ , LUDOVIC		
<b>Departament/s</b>	PRODUCCIÓ VEGETAL I CIÈNCIA FORESTAL		
<b>Distribució càrrega docent entre la classe presencial i el treball autònom de l'estudiant</b>	60 hores presencials 90 hores no presencials		
<b>Informació important sobre tractament de dades</b>	Consulteu <a href="#">aquest enllaç</a> per a més informació.		
<b>Idioma/es d'impartició</b>	Anglès		
<b>Horari de tutoria/lloc</b>	Centre: ETSEA Departament: Producció Vegetal i Ciència Forestal 2 planta Edifici principal Telèfon: 973702543		

Professor/a (s/es)	Adreça electrònica professor/a (s/es)	Crèdits impartits pel professorat	Horari de tutoria/lloc
BASSIÉ , LUDOVIC	ludovic.bassie@udl.cat	11,4	
CAPELL CAPELL, MARIA TERESA	teresa.capell@udl.cat	4,8	

## Informació complementària de l'assignatura

L'assignatura de Biotecnologia Vegetal és una assignatura troncal que s'imparteix durant el primer quadrimestre del tercer curs del Grau de Biotecnologia. La càrrega docent d'aquesta assignatura és de 6 crèdits que es distribueixen entre classes teòriques i pràctiques amb 3,5 i 2,5 crèdits respectivament.

L'assignatura s'estructura en 35 sessions teòriques de 50 minuts (incloent una sessió de vídeos sobre el tema del 'molecular farming') i 25 hores per a la realització d'un set de pràctiques de laboratori.

L'assignatura introdueix a l'estudiant en els conceptes de la biotecnologia vegetal i es basa sobre dues línies essencials: la biotecnologia molecular i la biotecnologia aplicada.

La **biotecnologia molecular** es considera fonamental aportant les nocions teòriques. Aquí l'objecte principal és conèixer i entendre els nivells bàsics d'organització molecular cel·lular per tal de poder aplicar amb èxit les tècniques de millora genètica vegetal contemporànies.

La biotecnologia molecular es basa en l'estudi de:

- la estructura i dels mecanismes moleculars de l'expressió (transcripcional) dels gens
- les eines moleculars i els diversos mètodes de transformació específiques utilitzades pel sistema vegetal

Per tal de desenvolupar el concepte de la assignatura, la **biotecnologia vegetal aplicada** es tracta amb unes diferents espècies vegetals que tenen un paper essencial al nivell econòmic en agricultura, en la indústria alimentària i en la indústria farmacèutica i recentment en la indústria dels bio-combustibles.

Aquesta assignatura requereix uns fonaments suficients de bioquímica, biologia cel·lular, genètica molecular i enginyeria genètica entre d'altres.

## Objectius acadèmics de l'assignatura

Els objectius principals de l'assignatura són donar a l'estudiant les bases tècniques de la biotecnologia molecular de plantes i donar-li les bases conceptuals més rellevants. Una part del programa es dedicarà a l'enginyeria genètica de les plantes. Es consideraran tots els aspectes que poden ser de relleu per a una aplicació pràctica en l'indústria farmacèutica i agroalimentària. Es pretén que un cop cursada l'assignatura, l'estudiant hagi assimilat les bases teòrics i metodològics que el capacitin per si mateix a accedir i comprendre els nous descobriments i avanços que dia a dia es produeixen en aquest camp tant actiu.

### Objectius de coneixements

Els objectius particulars que han de ser assolits són tenir coneixements:

- 1- del les característiques moleculars o protocol·làries en biologia molecular mitjançant cèl·lules vegetals
- 2- de les eines moleculars utilitzades en biotecnologia vegetal
- 3- dels diferents sistemes de transformació de plantes
- 4- de les aplicacions biotecnològiques aplicades al món vegetal
- 5- dels mecanismes fonamentals implicats en l'expressió d'un gen a nivell de l'ARN i en els mètodes utilitzats per controlar l'expressió
- 6- en l'ús de les plantes com bio- factories
- 7- de les estratègies desenvolupades per optimitzar la producció de molècules recombinantes en plantes
- 8- en l'ús alternatiu de les plantes mitjançant la modificació de vies metabòliques endògens i/o la introducció de vies metabòliques noves

## **Objectius de capacitats**

Després d'estudiar l'assignatura l'alumne ha de ser capaç de:

- 9- analitzar situacions biotecnològiques concretes
- 10- saber la funció de les tècniques bàsiques d'enginyeria molecular
- 11- adaptar els coneixements adquirits a situacions reals
- 12- aplicar les metodologies de les tècniques estudiades
- 13- integrar-se en un equip de recerca
- 14- entendre els articles relacionats amb la biotecnologia vegetal
- 15- utilitzar de forma eficient les diverses fonts d'informació existents

## **Competències**

- Conèixer bé el propòsit i les possibilitats de les tècniques bàsiques en enginyeria genètica i molecular.
- Proposar enfocaments tècnics per al disseny d'experiments.
- Integrar-se en un grup de recerca.
- Comprendre 'reviews' i articles de recerca en el camp de la biotecnologia vegetal o d'altres camps relacionats.
- Utilitzar de manera eficient diverses fonts d'informació.

## Continguts fonamentals de l'assignatura

El programa s'estructura en dues parts. En la primera part, '**Eines i Mètodes de Transformació en Biotecnologia Vegetal**', s'expliquen els conceptes, les tècniques i la terminologia del procés que porta a la generació de plantes genèticament enginyades. Aquesta part engloba essencialment els objectius de coneixements 1, 2,3 i 5 proposats en el programa. En la segona part, '**Les Aplicacions Principals de la Biotecnologia Vegetal**', es veu com l'ús de les plantes transgèniques poden tenir un paper important al nivell econòmic en agricultura, en medicina i en la indústria alimentària. Aquesta part respon als objectius de coneixements 4,6,7 i 8 encara que en termes generals també suposa la consecució dels objectius generals 1 i 2.

### Capítol I- Eines i Mètodes de Transformació en Biotecnologia Vegetal

#### Tema 1. Introducció

Història breu de la millora genètica. Les eines de la biologia molecular en enginyeria genètica. Les principals aplicacions en biotecnologia vegetal.

#### Tema 2. Estructura dels gens i característiques de la transcripció dels gens

Estructura gènica. Organització global del genoma de les plantes. Expressed Sequence Tags (ESTs). Els tipus de seqüències homòlegs. Overview of basal transcription. Estructura dels promotors: concepte dels elements *Cis/Trans* ; Core promoter elements. RNA processing. Regulació transcripcional. UTRs.

#### Tema 3. Les principals eines moleculars en biotecnologia vegetal

Els diferents tipus de promotors utilitzats en biotecnologia vegetal. . El gens de selecció: els gens de resistència a antibiòtics i herbicides. Els gens marcadors.

#### Tema 4. Transformació de les plantes-1

Generalitats. Protoplast electroporation. Sistema de transformació de plantes mitjançant l'*Agrobacterium tumefaciens*: Característiques d'*Agrobacterium*. Característiques del Ti-plasmid. Procés de transformació. El sistema del vector binari: el plasmid Ti modificat. Integració del T-DNA en el cromosoma de la planta. Selecció dels teixits vegetals per a la infecció. Desdiferenciació de les cèl·lules i dels teixits. Infecció i co-cultiu.

#### Tema 5. Transformació de les plantes-2

Sistema de transformació de plantes mitjançant la transferència directa de gens: Principi. Principis físics i químics. Instrumentació. Principi biològic del bombardeig de partícules: transformació transitòria i estable. Sistema de vectors. La co-transformació. Elecció del teixit diana. Condicions de cultiu pre/post-bombardeig i selecció dels teixits. Integració de l'ADN exogen. Estructura i organització dels locus transgènics.

#### Tema 6. Mètodes d'anàlisis de la presència i de la integració del transgen

Purificació de l'ADN genòmic de teixits vegetals. Anàlisis mitjançant el Southern blot: Digestió de l'ADN genòmic- Separació dels fragments digerits- Tècniques d'hibridació d'àcids nucleïcs. Mètode de transferència. Hibridació amb sondes específiques: Sistemes de marcatge. Prehibridació i hibridació. Rentats seqüencials d'astringència variable. Detecció de la sonda.

#### Tema 7. Targeted genome editing with the CRISPR-Cas technology

CRISPR History and background. CRISPR in the lab-a practical guide: Overview. The principle of CRISPR/Cas9-mediated gene disruption. Knock-out: To disrupt the gene of interest (via Insertions / Deletions). To edit / modify the endogenous genome via Homology Directed Repair. Off-target effects and Cas9 nickase. Expanded uses of the CRISPR system for genome manipulation.

## **Capítol II- Biotecnologia Vegetal Aplicada: Les aplicacions de la biotecnologia vegetal a la indústria i l'agricultura.**

### **Tema 8. El Molecular Farming**

Les plantes com a 'bio-factories'. Avantatges pràctics i econòmics en l'ús de les plantes transgèniques en bio-farming. Les diferents classes de proteïnes terapèutiques i industrials: proteïnes recombinants com farmacèutics- els anticossos- les subunitats recombinants per vacunes- altres proteïnes recombinants d'interès industrial. Les diferents plataformes vegetals: els sistemes nuclear i transplastomic del tabac- els cereals- els llegums- les fruits i verdures. Les estratègies per reduir l'escapament del transgn. L'ús de vacunes ingerides.

### **Tema 9. Les estratègies en el Molecular Farming**

La importància de la direccionalització del producte: introducció de senyals a la construcció. Importància de la pauta de glicosilació de la proteïna. La humanització de les glicoproteïnes. Estratègies en les etapes de purificació.

### **Tema 10. L'enginyeria de les vies metabòliques en plantes**

Mètodes utilitzats per modificar o inserir vies metabòliques dins una planta. Trajectes metabòlics mitjançant l'acció d'ARNs d'interferències. Construccions molecular apropiades a la producció de molècules d'ARN de doble cadena (dsRNA). El cas de la co-suppressió en flors de petúnia. Introducció de rutes metabòliques noves: exemples de cereals, arròs i blat de morro, millorats nutricionalment amb èxit mitjançant l'ús de l'enginyeria de vies metabòliques. El cas de la patata Amflora.

### **Tema 11- Bt technology**

Generalitats del Bt. Mecanisme d'acció (especificitat, insectes dianes). L'ús topical del Bt. El desenvolupament dels conreus Bt transgènics.

### **Tema 12. Exemples interessants d'usos comercials de la biotecnologia vegetal. Bases de dades d'OMGs. Visió general de la legislació dels OGMs.**

### **Activitats pràctiques**

El programa de les practiques es dedica al procediment de les primeres etapes implicades en el mètode d'anàlisis del Southern Blot (DNA blot analysis). Durant el procés de producció de plantes transgèniques es necessita comprovar, a nivell molecular, quines plantes estan transformades. Un dels mètodes d'anàlisis molecular més precís és el mètode del Southern blot.

Al mateix temps aquesta tècnica forneix informacions en la integració molecular del transgèn en el genoma hoste de la planta. Aquestes informacions són essencials per:

- la selecció de la planta 'parental', la més apropiada per produir la generació següent (presència completa del cDNA, nombre d'insercions baix, segregació nul·la).
- l'estudi de l'estructura i l'organització dels locus transgènics

Els alumnes s'organitzen en sub-grupos de dues persones en un grup de 10 individus per la realització de les practiques, que se imparteixen de forma intensiva durant un setmana.

### **Objectius de les practiques**

- Extreure l'ADN dels teixits vegetals

- Saber preparar un gel d'agarosa per un fer una electroforesi
- Utilitzar un enzim de restricció específic per tal de digerir l'ADN aïllat
- Identificar les mostres ben digerides
- Preparar mostres i reactius per fer una PCR
- Anàlisis de casos i problemes: interpretació d'anàlisis obtinguts mitjançant ADN i ARN 'blotting': identificació de les plantes transformades, analitzi de la pauta d'integració del transgèn, analitzi de l'expressió gènica.
- Saber manejar seqüències d'ADN des de genebank. Saber analitzar resultats de seqüenciació.

## **Contingut del programa de pràctiques:**

### **Dia1-Extracció d'ADN d'arròs**

Preparació de les mostres de fulles d'arròs. Trencament de les cèl·lules i homogeneïtzació dels teixits. Extracció amb fenol-cloroform. Precipitació alcohòlica de l'ADN genòmica (ADNg).

### **Dia2- Continuació de protocol del dia1- Digestió**

Neteja i resuspensió de l'ADNg. Quantificació de l'ADNg via el NanoDrop device. Digestió de l'ADN genòmica: càlculs, explicacions del procediment per fer una reacció eficient, assemblatge dels diferents components. Reflexió sobre les propietats de l'enzim de restricció escollit.

### **Dia3- PCR i preparació del gel d'agarosa**

Càlculs i preparació dels components per fer un gel d'agarosa. Càlculs i assemblatge dels components per la PCR pel cribratge del gen *gus*.

### **Day4. Electrophoresi i interpretació d' anàlisis moleculars**

Muntatge del material d'electroforesi i elaboració del gel d'agarosa. Migració electroforètica de totes les mostres (ADNg aïllats, ADN digerit; productes de PCR; control negatiu; marcador molecular) i revelació fotogràfica. Interpretacions dels resultats obtinguts.

Fer la interpretació d'anàlisis de Southern and northern blot d'articles de recerca.

### **Day 5. Anàlisi *In-silico* de seqüències** (sala d'informatica)

Unes seqüències obtingudes després reaccions de seqüenciació estaran analitzades amb l'ús de diferent softwares: FinchTV; Notepad++; ApE; Mega5; Ugene

### **Informe de pràctiques**

Es presentarà un guió que reflecteixi l'activitat de l'alumne al llarg de les pràctiques. L'informe serà organitzat de manera 'diari' descrivint el(s) objectiu(s) del(s) experiment(s), els punts importants i crítics, els detalls dels càlculs i els volums utilitzats, els comentaris del(s) problema(es) aparegut(s) i la interpretació dels resultats.

## **Eixos metodològics de l'assignatura**

Tipus	Descripció resumida de l'activitat	Dedicació
Activitat	(Títol de tema o activitat pràctica)	(hores)

TEO	<b>Tema 1. Introducció</b>	2
TEO	<b>Tema 2. Estructura dels gens i característiques de la transcripció de gens</b>	3
TEO	<b>Tema 3. Les principals eines moleculars en biotecnologia vegetal</b>	3
TEO	<b>Tema 4. Transformació de les plantes-1</b>	3
TEO	<b>Tema 5. Transformació de les plantes-2</b>	4
TEO; PRO	<b>Tema 6. Mètodes d'anàlisis de la presència i de la integració del transgen</b>	4
TEO	<b>Tema 7. Targeted genome editing with the CRISPR-Cas technology</b>	2
TEO	<b>Tema 8. El Molecular Farming</b>	4
TEO	<b>Tema 9. Les estratègies en el Molecular Farming</b>	2
TEO	<b>Tema 10. L'enginyeria de les vies metabòliques en plantes</b>	4
TEO	<b>Tema 11. Bt technology</b>	3
TEO	<b>Tema 12- Exemples interessants d'usos comercials de la biotecnologia vegetal. Bases de dades d'OMGs. Visió general de la legislació dels OMGs.</b>	1
PLB	<b>Extracció d'ADN d'arròs</b>	5
PLB	<b>Continuació de protocol del dia1- Digestió</b>	5
PLB	<b>Dia3- PCR i preparació del gel d'agarosa</b>	5
PLB	<b>Dia4. Electroforesi i interpretació d' anàlisis moleculars</b>	5
PRO	<b>Dia5. Anàlisi <i>In-silico</i> de seqüències (sala d'informatica)</b>	5

TEO: teoria; PRO: problemas; PLB: pràctiques de laboratori



Tipus d'activitat	Descripció	Activitat presencial alumne		Activitat no presencial alumne		Avaluació	Temps total
		<b>Objectius</b>	<b>Hores</b>	<b>Treball alumne</b>	<b>Hores</b>	<b>Hores</b>	<b>Hores</b>
<b>Lliçó magistral</b>	Classe magistral (Aula. Grup gran)	Explicació dels principals conceptes	<b>35</b>	Estudi: Conèixer, comprendre i sintetitzar coneixements	65	3.5	105
<b>Problemes i casos</b>	Classe participativa (Aula. Grup gran )	Resolució de problemes i casos	<b>2</b>	Aprendre a resoldre problemes i casos	8	1.5	10
<b>Seminari</b>	Classe participativa (Grup mitjà)	Realització d'activitats de discussió o aplicació		Resoldre problemes. Discutir			
<b>Laboratori</b>	Pràctica de Laboratori (Grup mitjà)	Execució de la pràctica: comprendre fenòmens, mesurar...	<b>25</b>	Estudiar i Realitzar memòria	10	informe	35
<b>Aula d'informàtica</b>	Pràctica d'aula d'informàtica (Grup mitjà )	Execució de la pràctica: comprendre fenòmens, mesurar...		Estudiar i Realitzar memòria			
<b>Pràctiques de camp</b>	Pràctica de camp (Grup mitjà )	Execució de la pràctica: comprendre fenòmens, mesurar...		Estudiar i Realitzar memòria			
<b>Visites</b>	Visita a explotacions o indústries	Realització de la visita		Estudiar i Realitzar memòria			
<b>Activitats dirigides</b>	Treball de l'alumne (individual o grup)	Orientar a l'alumne en el treball (en horari de tutories)	0	Realitzar un treball bibliogràfic, pràctic, etc.	10	informe	10
<b>Altres</b>							
<b>Totals</b>			60				160

## Sistema d'avaluació

Exàmens	Pràctiques	Anàlisi de casos i problemes	Altres activitats
<b>70%</b> Parcial 1 + parcial 2	<b>10%</b> Informe	<b>10%</b> Interpretació de resultats <b>10%</b> Problemes	

## Bibliografia i recursos d'informació

### Bibliografia bàsica

- Handbook of Plant Biotechnology volume1&2. 2004. P. Christou, H. Klee. John Wiley & Sons, Ltd. Chichester. *Disponible com llibre-e* ([www.bib.udl.cat](http://www.bib.udl.cat)).
- Molecular Plant Biology Volume1, A practical approach. 2002. Philip M. Gilmartin and Chris Bowler. Oxford University Press.
- Principles of Gene manipulation. (sixth edition). 2001. SB. Primrose, RM. Twyman, RW. Old. Blackwell Sciences Ltd. Oxford
- Introduction to plant biotechnology (3rd edition). 2009. H.S. Chawla- Enfield, N.H. : Science Publishers, cop.
- Plant biotechnology and transgenic plants (2002). Kirsi-Marja Oksman-Caldentey, Wolfgang H. Barz. New York : Marcel Dekker, 2002
- GMO Compass: [www.gmo-compass.org](http://www.gmo-compass.org)
- GMO safety: [www.gmo-safety.eu](http://www.gmo-safety.eu)
- International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications: [www.isaaa.org](http://www.isaaa.org)

### Bibliografia complementària

- Molecular Cloning- A Laboratory Manual. Vol 1,2,3. (Third Edition). 2001. J. Sambrook, DW. Russell. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Henry Stewart talks: [www.hstalks.com](http://www.hstalks.com)
- National Center for Biotechnology Information: [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)