Universitat de Lleida

GUÍA DOCENTE

BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

Coordinación: BASSIÉ , LUDOVIC

Año académico 2019-20

BIOTECNOLOGÍA VEGETAL 2019-20

Información general de la asignatura

Denominación	BIOTECNOLOGÍA VEGETAL
Código	101621
Semestre de impartición	1R Q(SEMESTRE) EVALUACIÓN CONTINUADA
Carácter	

Grado/Máster	Curso	Carácter	Modalidad
Grado en Biotecnología	3	OBLIGATORIA	Presencial

Número de créditos de la asignatura (ECTS)	6
Tipo de actividad, créditos y grupos	

Tipo de actividad	PRALAB	TEORIA
Número de créditos	2.5	3.5
Número de grupos	4	1

Coordinación	BASSIÉ , LUDOVIC
Departamento/s	PRODUCCION VEGETAL Y CIENCIA FORESTAL
Distribución carga docente entre la clase presencial y el trabajo autónomo del estudiante	60 hores presencials 90 hores no presencials
Información importante sobre tratamiento de datos	Consulte este enlace para obtener más información.
Idioma/es de impartición	Anglès
Horario de tutoría/lugar	Centre: ETSEA Departament: Producció Vegetal i Ciència Forestal 2 planta Edifici principal Telèfon: 973702543

BIOTECNOLOGÍA VEGETAL 2019-20

Profesor/a (es/as)	Dirección electrónica\nprofesor/a (es/as)	Créditos impartidos por el profesorado	Horario de tutoría/lugar
BASSIÉ , LUDOVIC	ludovic.bassie@udl.cat	11,4	
CAPELL CAPELL, MARIA TERESA	teresa.capell@udl.cat	4,8	

Información complementaria de la asignatura

La asignatura de Biotecnología Vegetal es una asignatura troncal que se imparte durante el primer cuatrimestre del tercer curso del Grado de Biotecnología. La carga docente de esta asignatura es de 6 créditos que se distribuyen entre clases teóricas y prácticas con 3,5 y 2,5 créditos respectivamente.

La asignatura se estructura en 35 sesiones teóricas de 50 minutos (incluyendo una sesión de videos sobre el tema del 'molecular farming') y 25 horas para la realización de un set de prácticas de laboratorio. La asignatura introduce al estudiante en los conceptos de la biotecnología vegetal y se basa sobre dos líneas esenciales: la biotecnología molecular y la biotecnología aplicada.

La biotecnología molecular se considera fundamental aportando las nociones teóricas. Aquí el objetivo principal es conocer y entender los niveles básicos de organización molecular celular para poder aplicar con éxito las técnicas de mejora genética vegetal contemporáneas.

La **biotecnología molecular** se basa en el estudio de:

- La estructura y de los mecanismos moleculares de la expresión (transcripcional) de los genes.

- Las herramientas moleculares y los diversos métodos de transformación específicas utilizadas por el sistema vegetal.

Para desarrollar el concepto de la asignatura, **la biotecnología vegetal aplicada** se trata con unas diferentes especies vegetales que tienen un papel esencial en el nivel económico en agricultura, en la industria alimentaria y en la industria farmacéutica y recientemente en la industria de los biocombustibles.

Esta asignatura requiere unos conocimientos suficientes de bioquímica, biología celular, genética molecular e ingeniería genética entre otros.

Objetivos académicos de la asignatura

Los objetivos principales de la asignatura son dar al estudiante las bases técnicas de la biotecnología molecular de plantas y darle las bases conceptuales más relevantes. Una parte del programa se dedicará a la ingeniería genética de las plantas. Se considerarán todos los aspectos que pueden ser de relieve para una aplicación práctica en la industria farmacéutica y agroalimentaria.

Se pretende que una vez cursada la asignatura, el estudiante haya asimilado las bases teóricas y metodológicas que lo capaciten para sí mismo a acceder y comprender los nuevos descubrimientos y avances que día a día se producen en este campo tanto activo.

Objetivos de conocimientos:

Los objetivos particulares que deben ser alcanzados son tener conocimientos:

1- de las características moleculares o protocolarias en biología molecular mediante

células vegetales.

2- de las herramientas moleculares utilizadas en biotecnología vegetal.

3- los diferentes sistemas de transformación de plantas.

4- de las aplicaciones biotecnológicas aplicadas al mundo vegetal.

5- de los mecanismos fundamentales implicados en la expresión de un gen a nivel del ARN y en los métodos utilizados para controlar la expresión.

6- en el uso de las plantas como bio- factorías.

7- de las estrategias desarrolladas para optimizar la producción de moléculas recombinantes en plantas.

8- en el uso alternativo de las plantas mediante la modificación de vías metabólicas endógenos y / o la introducción de vías metabólicas nuevas.

Objetivos de capacidades:

Después de estudiar la asignatura el alumno debe ser capaz de:

9- analizar situaciones biotecnológicas concretas

10- saber la función de las técnicas básicas de ingeniera molecular

11- adaptar los conocimientos adquiridos a situaciones reales

12- aplicar las metodologías de las técnicas estudiadas

13- integrarse en un equipo de investigación

14- entender los artículos relacionados con la biotecnología vegetal

15- utilizar de forma eficiente las diversas fuentes de información existentes

Competencias

-Conocer bien el propósito y las posibilidades de las técnicas básicas en ingeniería genética y molecular.
-Proponer enfoques técnicos para el diseño de experimentos.
-Integrar en un grupo de investigación.
-Comprender 'reviews' y artículos de investigación en el campo de la biotecnología vegetal o de otros campos relacionados.
-Utilizar de manera eficiente diversas fuentes de información.

Contenidos fundamentales de la asignatura

El programa se estructura en dos partes. En la primera parte, **'Herramientas y Métodos de Transformación en Biotecnología Vegetal'**, explican los conceptos, las técnicas y la terminología del proceso que lleva a la generación de plantas genéticamente ingeniadas. Esta parte abarca esencialmente los objetivos de conocimientos 1, 2,3 y 5 propuestos en el programa. En la segunda parte, **'Las Aplicaciones Principales de la Biotecnología Vegetal'**, se ve como el uso de las plantas transgénicas pueden tener un papel importante en el nivel económico en agricultura, en medicina y en la industria alimentaria. Esta parte responde a los objetivos de conocimientos 4,6,7 y 8 aunque en términos generales también supone la consecución de los objetivos generales 1 y 2.

Capitol I- Herramientas y métodos de transformación en biotecnología vegetal

Tema 1. Introducción

Historia breve de la mejora genética. Las herramientas de la biología molecular en ingeniería genética. Las principales aplicaciones en biotecnología vegetal.

Tema 2. Estructura de los genes y características de la transcripción de genes

Estructura génica. Organización global del genoma de las plantas. Expressed Sequence Tags (ESTs). Los tipos de secuencias homólogas. Overview of basal Transcripción. Estructura de los promotores: concepto de los elementos Cis / Trans; Core promoter elementos. RNA processing. Regulación transcripcional. UTRs.

Tema 3. Las principales herramientas moleculares en biotecnología vegetal

Los diferentes tipos de promotores utilizados en biotecnología vegetal. Los genes de selección: los genes de resistencia a antibióticos y herbicidas. Los genes marcadores

Tema 4. Transformación de las plantas-1

Generalidades. Protoplasto electroporation. Sistema de transformación de plantas mediante el Agrobacterium tumefaciens: Características de Agrobacterium. Características del Ti-plásmido. Proceso de transformación. El sistema del vector binario: el plásmido Ti modificado. Integración del T-DNA en el cromosoma de la planta. Selección de los tejidos vegetales para la infección. Desdiferenciación de las células y los tejidos. Infección y co-cultivo.

Tema 5. Transformación de las plantas-2

Sistema de transformación de plantas mediante la transferencia directa de genes: Principio. Principios físicos y químicos. Instrumentación. Principio biológico del bombardeo de partículas: transformación transitoria y estable. Sistema de vectores. La co-transformación. Elección del tejido diana. Condiciones de cultivo pre / post-bombardeo y selección de los tejidos. Integración del ADN exógeno. Estructura y organización de los locus transgénicos.

Tema 6. Métodos de análisis de la presencia y de la integración del transgen.

Extracción y electroforesis de los ácidos desoxyribonucleicos-Purificación del ADN genómico de tejidos vegetales. Análisis mediante '3 sets-primers PCR'. Análisis mediante el *Southern blot*: Digestión del ADN genómica- Separación de los fragmentos digerís- Técnicas de hibridación de ácidos nucleicos. Método de transferencia. Hibridación con sondas específicas: Sistemas de marcaje. Prehibridación e hibridación. Lavados secuenciales de astringencia variable. Detección de la sonda. Southern blot interpretation.

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.

Capítulo II- Las aplicaciones principales de la biotecnología vegetal

Tema 8. El Molecular Farming

Las plantas como 'bio-factorías'. Ventajas prácticos y económicos en el uso de las plantas transgénicas en bio-farming. Las diferentes clases de proteínas terapéuticas e industriales: proteínas recombinantes como farmacéuticos- los anticuerpos- las subunidades recombinantes para vacunes- otras proteínas recombinantes de interés industrial. Las diferentes plataformas vegetales: los sistemas nuclear y transplastomic del tabaco- los cereales- los legumbres- las frutas y verduras. Las estrategias para reducir el escape del transgen. El uso de vacunas ingeridas.

Tema 9. Las estrategias en el Molecular Farming

La importancia del *product targeting*: introducción de señales en la construcción. Importancia de la pauta de glicosilación de la proteína. La humanización de las glicoproteínas. Estrategias en las etapas de purificación.

Tema 10. La ingeniería de las vías metabólicas en plantas

Métodos utilizados para modificar o insertar vías metabólicas dentro de una planta. Trayectos metabólicos mediante la acción de ARNs de interferencia. Construcciones moleculares apropiadas a la producción de moléculas de ARN de doble cadena (dsRNA). El caso del *co-suppression* en flores de petunia. Introducción de rutas metabólicas nuevas: ejemplos de cereales, arroz y trigo de morro, mejorados nutricionalmente con éxito mediante el uso de la ingeniera de vías metabólicas. El caso de la patata Amflora.

Tema 11- Bt technology

Generalidades del Bt. Mecanismo de acción (especificidad, insectos dianas). El uso *topical* del Bt. El desarrollo de los cultivos Bt transgénicos.

Tema 12. Ejemplos interesantes de usos comerciales de la biotecnología vegetal. Bases de datos de OMGs. Visión general de la legislación de los OGMs.

Actividades prácticas

El programa de las practicas se dedica al procedimiento de las primeras etapas implicadas en el método de análisis del *Southetn Blot* (*DNA blot análisis*). Durante el proceso de producción de plantas transgénicas se necesita comprobar, a nivel molecular, qué las plantas están transformadas. Uno de los métodos de análisis molecular más preciso es el método del *Southern blot*.

Al mismo tiempo esta técnica proporciona informaciones en la integración molecular del transgen en el genoma huésped de la planta. Estas informaciones son esenciales para:

- La selección de la planta 'parental', la más apropiada para producir la generación siguiente (presencia completa del cDNA; número de inserciones bajo; segregación nula).

- El estudio de la estructura y la organización de los locus transgénicos.

Los alumnos se organizan en sub-grupos de dos personas en un grupo de 10 individuos para la realización de las prácticas, que se imparten de forma intensiva durante una semana.

Objetivos de las prácticas

-Extraer el ADN de los tejidos vegetales.

-Saber preparar un gel de agarosa por un hacer una electroforesis.

-Utilizar una enzima de restricción específica para digerir el ADN aislado.

-Identificar las muestras bien digeridas.

-Preparar las muestras y los reactivos para hacer una PCR.

- Análisis de casos y problemas: interpretación de análisis obtenidos mediante ADN y ARN *blotting*: identificación de las plantas transformadas, analice de la pauta de integración del transgen, analice de la expresión génica.

-Saber manejar secuencias de ADN desde *genebank*. Saber analizar resultados de secuenciación.

Contenido del programa de prácticas:

Día1-Extracción de ADN de arroz

Preparación de las muestras de hojas de arroz. Rotura de las células y homogeneización de los tejidos. Extracción con fenol-cloroformo. Precipitación alcohólica del ADN genómico (ADNg).

Dia2- Continuación de protocolo del dia1- Digestión

Limpieza y resuspensión del ADNg. Cuantificación del ADNg vía el NanoDrop device. Digestión del ADN genómico: cálculos, explicaciones del procedimiento para hacer una reacción eficiente, ensamblaje de los diferentes componentes. Reflexión sobre las propiedades de la enzima de restricción elegida.

Dia3- PCR y preparación del gel de agarosa

Cálculos y preparación de los componentes para hacer un gel de agarosa. Cálculos y ensamblaje de los componentes para la PCR por el cribado del gen *gus*.

Day4. Electroforesis e interpretación de analice moleculares

Montaje del material de electroforesis y elaboración del gel de agarosa. Migración electroforética de todas las muestras (ADNg aislados; ADN digerido; productos de PCR; control negativo; marcador molecular) y revelación fotográfica. Interpretaciones de los resultados obtenidos.

Hacer la interpretación de *Southern* and *northern blot* de artículos de investigación.

Day 5. Analice *in-silico* de secuencias (sala de informática)

Unas secuencias obtenidas tras reacciones de secuenciación estarán analizadas con el uso de diferente softwares: FinchTV; Notepad ++; APE; Mega5; Ugene

Ejes metodológicos de la asignatura

Tipus Activitat	Descripció resumida de l'activitat (Títol de tema o activitat pràctica)	Dedicació (hores)
TEO	**Tema 1. Introducció**	2
TEO	**Tema 2. Estructura dels gens i característiques de la transcripció de gens**	3
TEO	**Tema 3. Les principals eines moleculars en biotecnologia vegetal**	3
TEO	**Tema 4. Transformació de les plantes-1**	3
TEO	**Tema 5. Transformació de les plantes-2**	4
TEO; *PRO*	**Tema 6. Mètodes d'anàlisis de la presencia i de la integració del transgen**	4
TEO	**Tema 7.Targeted genome editing with the CRISPR-Cas technology**	2
TEO	**Tema 8. El Molecular Farming**	4
TEO	**Tema 9. Les estratègies en el Molecular Farming**	2
TEO	**Tema 10. L'enginyeria de les vies metabòliques en plantes**	4
TEO	**Tema 11. Bt technology**	3
TEO	**Tema 12- Exemples interessants d'usos comercials de la biotecnologia vegetal. Bases de dades d'OMGs. Visió general de la legislació dels OGMs.**	1
PLB	**Extracció d'ADN d'arròs**	5
PLB	**Continuació de protocol del dia1- Digestió**	5

PLB	**Dia3- PCR i preparació del gel d'agarosa**	5
PLB	**Dia4. Electroforesi i interpretació d' anàlisis moleculars**	5
PRO	**Dia5. Anàlisi *In-silico* de seqüencies** (sala d'informatica)	5

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

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

Sistema de evaluación

Exàmens	Pràctiques	Anàlisis de casos i problemes	Altres activitats
70% Parcial 1 + parcial 2	**10%** Informe	**10%** Interpretació de resultats **10%** Problemes	

Bibliografía y recursos de información

Bibliografia bàsica

- Hanbook of Plant Biotechnology volume1&2. 2004. P. Christou, H. Klee. John Wiley & Sons, Ltd. Chichester. *Disponible com llibre-e (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
- GMO safety: www.gmo-safety.eu
- International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications: 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
- National Center for Biotechnology Information: www.ncbi.nlm.nih.gov