



Universitat de Lleida

GUÍA DOCENTE
BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

Coordinación: BASSIÉ , LUDOVIC

Año académico 2020-21

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 horas presenciales 90 horas no presenciales			
Información importante sobre tratamiento de datos	Consulte este enlace para obtener más información.			
Idioma/es de impartición	Anglès			

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

Nota: En caso de confinamiento en el contexto del COVID19, el procedimiento de evaluación de la asignatura se modificara.

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 endógenas 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 ingeniería 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 ingenieras. 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 vacunas- 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 ingeniería 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 OMGs.

Actividades prácticas

El programa de las prácticas se dedica al procedimiento de las primeras etapas implicadas en el método de análisis del *Southern Blot (DNA blot análisis)*. Durante el proceso de producción de plantas transgénicas se necesita comprobar, a nivel molecular, que 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 información 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

Se utiliza el kit comercial NucleoSpin® Plant II kit (Macherey-Nagel).

-Día2. Cuantificación y digestión del ADN genómico

Cuantificación del ADN por espectrofotometría (NanoDrop).

Digestión del ADN genómico: procedimiento en modo de master mix.

-Día 3. Amplificación del transgén por PCR

Cálculos de diluciones y preparación del master mix.

Ejercicios de interpretación de varios ejemplos de análisis de Southern blot.

-Día 4. Electroforesis e interpretaciones de análisis moleculares

Preparación de gel de agarosa en unidad de electroforesis. Preparación y carga de las muestras (ADNg; productos digeridos; productos de PCR).

Interpretación de los resultados obtenidos.

Breve evaluación del coste de las sesiones de prácticas en el laboratorio.

-Día 5. Análisis in-silico de secuencias de ADN

Se analizan diferentes tipos de secuencias de ADN (resultantes de reacciones de secuenciación / mRNA homólogos / vector plasmídico) con varios programas: Notepad ++; FinchTV; Editor de plásmido APE; MegaX.

Ejes metodológicos de la asignatura

Tipus	Descripció resumida de l'activitat	Dedicació
Activitat	(Títol de tema o activitat pràctica)	(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 presència 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 OMGs.	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 <i>In-silico</i> de seqüències (sala d'informatica)	5

TEO: teoria; 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 indústries	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

Plan de desarrollo de la asignatura

Durante el curso 2020-2021, las clases de teorías se harán de manera alternando el **modo presencial y no-presencial**.

En caso de confinamiento, las sesiones de prácticas en el laboratorio y en el aula de informática estarán sustituidas por unas **actividades alternativas**.

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

Bibliografía 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

Bibliografía 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

