

## BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

---

- **Molecular Biotechnology.** (3<sup>da</sup> Edición). *B.R. Glick y J.J. Pasternak.* ASM Press. 2003.
- **Basic Biotechnology.** 2<sup>a</sup>Ed. *Ratledge, C. y Kristiansen, B.* Cambridge University Press. 2001.
- **Biología Molecular y Biotecnología.** (3<sup>ra</sup> Edición). *J.M. Walker.* Acribia. 1997.
- **Gene Cloning.** (3<sup>ra</sup> Edición). *T.A. Brown,* Chapman and Hall. 1995.
- **Yeast Physiology and Biotechnology.** *G.M. Walker.* John Wiley & Sons, 1998.
- **Gene targeting.** *J.M. Sedivy y A.L. Joyner,* W.H. Freeman and Company. 1992.
- **Molecular Biology and Biotechnology.** *Smith and Wood,* Chapman and Hall. 1991. Traducida al castellano por Ed. Iteamericana.

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA



PROGRAMA DE

**BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA**

ORIENTACIÓN BIOTECNOLÓGICA

CRÉDITOS: 3 TEÓRICOS + 1,5 PRÁCTICOS

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA II

PLAN DE ESTUDIOS 2000

## TEMARIO DE LAS CLASES PRÁCTICAS

---

- 1.- Uso de vectores genéticos: plásmidos. Transformación.
- 2.- Expresión heteróloga en *Escherichia coli*: formación de cuerpos de inclusión. Electroforesis de proteínas.
- 3.- Expresión heteróloga en levaduras: utilización de "gene reporters".
- 4.- Bioinformática: análisis de secuencias de DNA.

## SEMINARIOS DE PROBLEMAS

---

Los seminarios están orientados hacia una mayor participación de los alumnos. En ellos se pretende que el alumno participe activamente mediante la resolución de problemas concretos relacionados con la teoría explicada. Éstos comprenden:

1. Diseño de reacciones de PCR
2. Construcción de proteínas de fusión
3. Desarrollo de estrategias de clonación
4. Diseño de sistemas de "screening"

## CRITERIOS DE EVALUACIÓN

---

Dadas las características de duración de la asignatura, la evaluación se basará en la realización de un único examen al finalizar las enseñanzas teóricas, teniéndose en cuenta también participación del alumno en las clases y seminarios. Los conocimientos prácticos se evaluarán mediante la elaboración de una guía de prácticas y de modo continuado durante su realización.

### **Lección 21.**

Ingeniería genética en la producción de hormonas, enzimas y factores de crecimiento. Hormonas humanas producidas por microorganismos. Somatostatina. Hormona de crecimiento. Factores hematopoyéticos.

### **Lección 22.**

La insulina como ejemplo de producción heteróloga. Aspectos históricos de la producción de insulina. Clonación y expresión en bacterias y levaduras. Derivados de la insulina y proinsulina.

### **Lección 23.**

Producción de productos inmunológicos por ingeniería genética. Producción de vacunas. Vacunas atenuadas: vacuna del cólera. Vacunas de antígenos purificados: vacuna de Hepatitis B.

### **Lección 24.**

Desarrollo de vehículos de vacunación. Expresión en virus vacunal. Expresión en poliovirus. Expresión en *Salmonella* y BCG. Vacunas de DNA.

### **Lección 25.**

Producción biotecnológico de agentes inmunoterapéuticos. Interleucinas e interferones. Anticuerpos de cadena sencilla. Optimización de las características de los anticuerpos por ingeniería genética: "Phage display".

### **Lección 26.**

Diseño de sistemas de "screening" de interés en la industria farmacéutica. Sistemas de "screening" *in vitro* e *in vivo*. Ventajas y limitaciones. Automatización y miniaturización. Robótica.

### **Lección 27.**

Aplicación de la ingeniería genética al diseño y selección de nuevos agentes terapéuticos. Expresión de genes humanos en levaduras. Identificación y producción de dianas de fármacos. Identificación de nuevos agentes antimicrobianos.

## **PROGRAMA DE BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA**

---

### **OBJETIVOS**

Se pretende que el alumno se familiarice con las herramientas básicas que posibilitan la manipulación genética de microorganismos enfocadas hacia su utilización en la producción de sustancias de interés biotecnológico. También se pretenderá que el alumno conozca los diferentes sistemas de expresión génica, tanto en procariotas como en eucariotas, su potencialidad y limitaciones. Estos conocimientos se desarrollarán desde un punto de vista aplicado concretándose en procesos de interés actual que tengan utilidad terapéutica, interés industrial o medioambiental.

### **PROGRAMA DE CLASES TEÓRICAS**

---

#### **I. Fundamentos de biotecnología molecular.**

##### **Lección 1.**

Introducción a la tecnología de DNA recombinante: desarrollo histórico. El microorganismo como herramienta esencial en la Biotecnología. Aplicaciones en la producción de productos sanitarios. Consecuencias e impacto social.

##### **Lección 2.**

Herramientas y técnicas básicas de manipulación del DNA. Técnicas de purificación y análisis de ácidos nucleicos. Purificación de DNA plasmídico y DNA genómico. Purificación de RNAm.

##### **Lección 3.**

Enzimas utilizados en la manipulación del DNA. Enzimas de restricción. Tipos y utilidades. Otros enzimas utilizados en manipulación *in vitro*. Obtención de cDNA. Secuenciación de DNA.

##### **Lección 4.**

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Fundamentos. Diseños de oligonucleóticos. Tipos de PCR. Clonación de productos de PCR. Síntesis química de DNA.

##### **Lección 5.**

Vectores de clonación. Fagos y plásmidos. Concepto de plásmidos como vectores de clonación. Principales características funcionales. Región múltiple de clonación.

Marcadores genéticos: tipos y utilidades. Sistemas de selección de recombinantes. Fagos como herramientas de clonación.

#### **Lección 6.**

Clonación de genes y su estudio. Sistemas de clonación de genes. Complementación funcional y hibridación de ácidos nucleicos. Características y limitaciones. Identificación de elementos funcionales en genes.

#### **Lección 7.**

Introducción a la bioinformática. Análisis *in silicio* de DNA. Bases de datos. Análisis de restricción, búsqueda de señales reguladoras y de ORFs.

#### **Lección 8.**

Análisis *in silico* de proteínas. Búsqueda de función por comparación. Concepto de homología. Búsqueda de motivos funcionales. Modelización molecular.

### **II. Expresión de proteínas heterólogas en microorganismos.**

#### **Lección 9.**

Análisis de la expresión génica. Concepto de promotor. Características de los promotores eucariotas y procariotas. Regulación transcripcional: secuencias reguladoras y factores de transcripción,

#### **Lección 10.**

Aislamiento y estudio de promotores. Sistemas de detección-cuantificación de la expresión génica. "Gene reporters": concepto y utilidades. Principales "gene reporters" en procariotas y eucariotas.

#### **Lección 11.**

Expresión heteróloga en sistemas procariotas. Microorganismos utilizados. Características taxonómicas y biológicas. Ventajas y limitaciones. Vectores de expresión. Características y utilidades.

#### **Lección 12.**

Expresión heteróloga en sistemas procariotas. Sistemas especializados de producción heteróloga. Sistemas de exportación. Modificaciones postraduccionales. Problemas asociados a la expresión heteróloga. Nuevas perspectivas.

#### **Lección 13.**

Expresión heteróloga en sistemas eucariotas. Microorganismos utilizados: levaduras y hongos filamentosos. Características taxonómicas, biológicas y metabólicas. Vectores de expresión. Vectores episómicos, centroméricos e integrativos.

#### **Lección 14.**

Expresión heteróloga en sistemas eucariotas. Sistemas especializados de producción heteróloga. Secreción y modificaciones postraduccionales. Características y limitaciones. Sistemas de expresión en baculovirus. Nuevas perspectivas.

#### **Lección 15.**

Fusiones génicas transcripcionales y traduccionales. Proteínas de fusión: sistemas genéticos más utilizados ("tags"). Estabilidad y purificación de proteínas. Cromatografía de afinidad.

#### **Lección 16.**

Problemas generales de la expresión génica para producción industrial. Estabilidad del DNA recombinante. Optimización de la expresión. Uso de promotores regulables y constitutivos. Uso de codones modificados.

#### **Lección 17.**

Sistemas de producción a gran escala. Tipos de fermentación: discontinua, alimentada y continua. Procesos de bioconversión. Control del proceso.

### **III. Aplicaciones biotecnológicas de la tecnología de DNA recombinante**

#### **Lección 17.**

Utilización de la ingeniería genética en la modificación de microorganismos industriales. Estrategias globales de modificación del metabolismo. Incremento de dosis génica y alteración de la expresión génica. Ingeniería metabólica.

#### **Lección 18.**

Modificación de cepas productoras de metabolitos primarios y secundarios. Manipulación de microorganismos industriales productores de metabolitos secundarios: actinomicetos y hongos filamentosos. Ingeniería genética en la producción de antibióticos  $\beta$ -lactámicos.

#### **Lección 19.**

Metabolitos primarios de interés industrial. Ingeniería genética en la producción de aminoácidos, ácidos orgánicos, polisacáridos y vitaminas.

#### **Lección 20.**

Proteínas con utilidad terapéutica. Ingeniería de proteínas. Mutagénesis al azar. Sistemas de mutagénesis dirigida: fago M13, PCR y otros. Aspectos técnicos y utilidades.