

Universidad de Puerto Rico
Recinto de Río Piedras
Facultad de Ciencias Naturales
Departamento de Biología

**Laboratorio de Biotecnología (BIOL 3365) – Sección experimental
Primer semestre 2018-2019**

Horario: Viernes 9:00 – 11:50 am

Salón: NCN-208

Profesora: Dra. Michelle Borrero
Oficina: Edificio Archivo Central, 115
Horas de oficina: por acuerdo
Correo electrónico: borrero.michelle@gmail.com

Créditos y horas contacto: 1 crédito / 3 horas semanales

Pre-requisitos: Genética (BIOL3349)

Descripción del curso

Técnicas básicas de DNA recombinante y su uso en diferentes proyectos de investigación. Se da énfasis a las técnicas utilizadas en la identificación y mapas de genes, expresión genética, diagnósticos médicos y forenses, terapia genética, bioremediación e ingeniería genética.

Objetivos del curso

1. Ejecutar y explicar los procedimientos básicos que son ampliamente utilizados en la industria de la biotecnología. Esto incluye, pero no se limita a:
 - a. Purificar DNA genómico de células o tejidos.
 - b. Estimar la concentración y pureza de muestras de ADN.
 - c. Separar fragmentos de DNA por electroforesis.
 - d. Transformación de E. coli con plásmidos recombinantes.
 - e. Purificar proteínas recombinantes expresadas en E. coli
 - f. Amplificar fragmentos de DNA utilizando PCR.
 - g. Utilización de sondas moleculares para la detección de macromoléculas.
 - h. Utilización de la tecnología automatizada para recoger y analizar datos moleculares.
2. Utilizar recursos de internet, aplicaciones de computadoras y bases de datos para realizar análisis estadísticos y de bioinformática.
3. Explicar resultados experimentales y escribir reportes científicos.
4. Evaluar y justificar la relevancia de la biotecnología molecular en la sociedad moderna.
 - a. Aplicaciones a la biotecnología.
 - b. Oportunidades profesionales en biotecnología y áreas relacionadas.
 - c. Conflictos éticos, legales y sociales que resultan de los avances en el campo de la biotecnología.

Objetivos específicos del curso a través del formato CURE (course-based research experience)

1. Utilizar el conocimiento y los conceptos que se encuentran en la literatura primaria para realizar y defender decisiones
2. Explicar el rol de las proteínas que enlazan el DNA en la relación entre el genoma y el fenoma
3. Reconocer la aplicación y la utilidad de las técnicas aprendidas a través de la investigación

Calendario del curso*

Fecha	Ejercicio	Conceptos	Referencia
24 de agosto	Introducción al curso y al proyecto <ul style="list-style-type: none"> • Silabo • Reglas de seguridad • Formato CURE • Introducción al proyecto 	<ul style="list-style-type: none"> • Formato del curso • Diseño experimental <ul style="list-style-type: none"> ○ Factores de transcripción • Dogma Biología Molecular • PCR 	
31 de agosto	Uso y manejo de micropipetas. Bioinformática – Diseño de ‘primers’	<ul style="list-style-type: none"> • Precisión vs. Exactitud • Medidas y concentraciones • Reproducibilidad • Desviación estándar • ‘Primers’ para ‘Gibson Assembly’ • Acceder información genómica en GenBank • Homología y conservación de genes • <i>Asignación</i> – Diseño de ‘primers’ para Gibson Assembly 	Thiel, et. al. Apéndice I – pp.173-175 SnapGene® Viewer. http://www.snapgene.com/products/snapgene_viewer/ Integrated DNA Technologies. OligoAnalyzer 3.1. https://www.idtdna.com/calc/analyser
7 de septiembre	PCR	<ul style="list-style-type: none"> • PCR • Funciones de reactivos de PCR • Estructura y uso de plásmido recombinante 	New England Biolabs. PCR Protocol for Phusion® High-Fidelity DNA Polymerase (M0530). https://international.neb.com/protocols/0001/01/01/pcr-protocol-m0530
14 de septiembre	Electroforesis y purificar productos de PCR	<ul style="list-style-type: none"> • Electroforesis • Características del DNA que permiten purificación y cuantificación espectrofotométrica 	Thiel, et. al. Apéndice II – pp.176-177 QIAquick PCR Purification Kit. https://www.qiagen.com/us/resources/resourcedetail?id=3987caa6

			<p>-ef28-4abd-927e-d5759d986658&lang=en</p> <p>QIAquick Gel Extraction Kit. https://www.qiagen.com/us/resources/resourcedetail?id=3987caa6-ef28-4abd-927e-d5759d986658&lang=en</p>
21 de septiembre	“Ligation” & Transformación de bacterias DH5 α	<ul style="list-style-type: none"> • ‘Gibson Assembly’ • Transformación 	<p>Gibson Assembly® Cloning Kit. https://international.neb.com/products/e5510-gibson-assembly-cloning-kit#Product%20Information</p>
28 de septiembre	Colony Screening – PCR	<ul style="list-style-type: none"> • Estructura y uso de plásmido recombinante • Repasar diseño experimental 	<p>Taq 2X Master Mix. https://www.neb.com/products/m0270-taq-2x-master-mix#Protocols%20%20Manuals</p>
5 de octubre	Electroforesis de productos del ‘colony screen’	<ul style="list-style-type: none"> • Análisis de resultados • Discusión sobre presentaciones orales 	
19 de octubre	Extracción y purificación de ADN plasmídico. Cuantificación de ADN plasmídico.	<ul style="list-style-type: none"> • Propiedades físicas y químicas del DNA que permiten extracción de un extracto crudo de bacterias • Diferencias entre DNA genómico y plasmídico • Lisis-alkalina • Propiedades membrana silica • Propiedades del DNA 	<p>QIAprep Miniprep Kit Handbook. https://www.qiagen.com/us/resources/resourcedetail?id=22df6325-9579-4aa0-819c-788f73d81a09&lang=en</p> <p>Lecturas espectrofotométricas utilizando NanoDrop – Hand-out</p>
26 de octubre	Reacción para secuenciar el ADN	<ul style="list-style-type: none"> • Secuenciación de Sanger 	<p>BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit USER GUIDE. https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/4337035_BD_Tv31CycSqKt_RUO_UG.pdf</p>
2 de noviembre	Análisis de secuencia y transformar en células BL21	<ul style="list-style-type: none"> • Análisis bioinformática de secuencia • Utilizar Pfam para identificar dominios de proteína • Proteínas recombinantes 	<p>BL21 Competent <i>E. coli</i>. https://international.neb.com/products/c2530-bl21-competent-e-coli#Protocols%20%20Manuals</p>
9 de noviembre	Crece clones e inducción de	<ul style="list-style-type: none"> • Síntesis de proteínas recombinantes 	<p>Novagen. pET System Manual, 11th edition. http://www.emdmillipore.com/PR</p>

	síntesis de proteínas	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Asignación</i> - diseñar clonación de homeodomain 	/en/product/pET-51b+-DNA-Novagen,EMD_BIO-71553#anchor_USP
16 de noviembre	Purificar proteínas	<ul style="list-style-type: none"> • Métodos para purificar proteínas <ul style="list-style-type: none"> ○ 10x His-Tag ○ Strep-Tag II tag 	His- Tag - https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/88224?SID=srch-hj-88224 Strep-Tag II - https://www.iba-lifesciences.com/isotope/2/2-1202-550-ShortProtocol_Strep-Tactin-Purification.pdf
30 de noviembre	SDS-PAGE	<ul style="list-style-type: none"> • Electroforesis de proteínas • Análisis de resultados 	Mini-PROTEAN TGX Precast Gels. http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/10026447.pdf
7 de diciembre	Presentaciones orales		

*El calendario de clases está sujeto a cambios. Cualquier cambio que sea necesario será notificado con la debida anticipación.

Políticas del curso

Página del curso

La página del curso se encuentra en la plataforma Moodle. Es requisito estar matriculado en el curso que se encuentra en esta plataforma. En él encontrará copias de este sílabo y del calendario y también podrá acceder a las presentaciones de clase, lecturas asignadas, tareas y pruebas cortas. Cualquier información pertinente será notificada en clase y se publicará en la página del curso en Moodle. La entrega de tareas, las calificaciones y todo tipo de comunicación electrónica se realizará a través de este sistema. Dirección electrónica: <https://online.uprrp.edu/>

Asistencia, Tardanzas y Reposiciones

LA ASISTENCIA AL LABORATORIO ES OBLIGATORIA tal como lo indica el Reglamento General de Estudiantes de la Universidad de Puerto Rico. Dada la naturaleza de esta sección de laboratorio, **NO SE PODRAN OFRECER REPOCIONES DE LAS EXPERIENCIAS DE LABORATORIO**, ni las tareas asociadas con el mismo. **NO HABRÁ REPOSICIÓN DE QUIZZES**. Más de tres ausencias equivalen a F en el curso.

Para el uso eficiente del tiempo en el laboratorio la **PUNTUALIDAD ES IMPRESCINDIBLE**. Las tardanzas impactaran negativamente su nota de participación. Tres tardanzas se consideraran como el equivalente de una ausencia.

Código de vestimenta

El uso de la bata de laboratorio es obligatorio. También es indispensable el uso de zapatos cerrados y la ropa debe cubrir aquellas áreas que quedan expuestas por la bata (i.e., pantalones/ faldas largas, camisas con cuello alto).

Estrategias instruccionales

Ejercicios de laboratorio, discusiones, trabajos escritos, presentaciones orales, uso de recursos de internet y bases de datos.

Métodos alternos de enseñanza

La Certificación Núm. 112 (2014-2015) de la Junta de Gobierno define un curso presencial como un curso en el cual 75% o más de las horas de instrucción requieren la presencia física del estudiante y el profesor en el salón de clases. Esto quiere decir que 25% de un curso presencial, pudiera ofrecerse sin requerir la presencia física de los estudiantes y el profesor en el salón de clases. En caso de ser necesario, este curso podrá completar hasta 25% de las horas contacto (11.25 horas) de forma no presencial por métodos alternos como por ejemplo: Video-conferencias, módulos instruccionales, foros de discusión y cibercharlas entre otros. De ser así, se modificará el calendario/temario para incluir los temas que serán cubiertos por métodos alternos.

Recursos de aprendizaje

Salón de laboratorio, computadoras portátiles con acceso a internet, máquina de PCR, equipo básico para manejar y crecer bacterias, equipo para realizar electroforesis de DNA y proteínas. Reactivos específicos para cada ejercicio: proteínas, DNA, enzimas, medios de cultivo, etc.

Además, es indispensable tener acceso a artículos científicos, presentaciones y enlaces provistos a través de la plataforma Moodle y que el estudiante utilice su cuenta de correo electrónico institucional. El estudiante debe tener acceso a computadora con conexión rápida de Internet y programas de Microsoft Office o equivalentes (Word y PowerPoint).

Estrategias de evaluación

- Quizzes y Asignaciones (**60%**): Pruebas escritas u orales para *evaluar el aprovechamiento* del estudiante. Pueden ser *avisadas o sin avisar* y cubrirán los aspectos *conceptuales y prácticos* de los ejercicios de laboratorio. Este componente también incluirá las tareas asignadas para *evaluar la comprensión* de los temas y procesos discutidos en clase. Las fechas de entrega serán establecidas en el momento que se asigne la tarea.
- Presentación oral (**20%**): Trabajo grupal con respecto a dilemas bioéticos y aspectos sobre las implicaciones morales y éticas de la biotecnología. Se presentará y discutirá un dilema bioético por grupo por medio de una *presentación oral* en la última sección del laboratorio. Más detalles sobre el formato y aspectos del contenido serán discutidos en clase. Se utilizara una rúbrica para la preparación y corrección del trabajo.
- Libreta (**10%**): Preparación de una libreta de laboratorio para documentar todo el trabajo hecho durante el periodo de clase. Esta debe incluir material en preparación para el laboratorio, notas y observaciones tomadas durante la ejecución de experimentos y resultados, tablas y gráficas obtenidas tras la ejecución de los experimentos. Más detalles sobre el formato y aspectos del contenido que serán evaluados usando una hoja de cotejo se discutirán en clase. Se explorará la posibilidad de utilizar una libreta de laboratorio electrónica.
- Participación (**10%**): Participar *activamente* de los ejercicios realizados en el laboratorio. Contribuir a la creación de un *ambiente conducente al aprendizaje* y *cooperar* con sus compañeros para asegurar el uso eficiente del tiempo. Participar en la discusión de lecturas

asignadas. Respetar reglas establecidas al inicio del curso. La evaluación se realizara utilizando una hoja de cotejo que se discutirá en clase.

Acomodo razonable

Los estudiantes que reciban servicios de Rehabilitación Vocacional deben comunicarse con el profesor al inicio del semestre para planificar el acomodo razonable y equipo asistivo necesario conforme a las recomendaciones de la Oficina de Asuntos para las Personas con Impedimento (OAPI) del Decanato de Estudiantes. También aquellos estudiantes con necesidades especiales que requieren de algún tipo de asistencia o acomodo deben comunicarse con el profesor.

Integridad académica

La Universidad de Puerto Rico promueve los más altos estándares de integridad académica y científica. El Artículo 6.2 del Reglamento General de Estudiantes de la UPR (Certificación Núm. 13, 2009-2010, de la Junta de Síndicos) establece que “la deshonestidad académica incluye, pero no se limita a: acciones fraudulentas, la obtención de notas o grados académicos valiéndose de falsas o fraudulentas simulaciones, copiar total o parcialmente la labor académica de otra persona, plagiar total o parcialmente el trabajo de otra persona, copiar total o parcialmente las respuestas de otra persona a las preguntas de un examen, haciendo o consiguiendo que otro tome en su nombre cualquier prueba o examen oral o escrito, así como la ayuda o facilitación para que otra persona incurra en la referida conducta”. Cualquiera de estas acciones estará sujeta a sanciones disciplinarias en conformidad con el procedimiento disciplinario establecido en el Reglamento General de Estudiantes de la UPR vigente.

La facultad espera de sus estudiantes un alto nivel de responsabilidad y honestidad académica. Ya que el valor de un grado académico depende de la integridad del trabajo realizado por el estudiante para alcanzar el mismo, es imperativo que un estudiante demuestre integridad absoluta en sus trabajos académicos. Cualquier falta de deshonestidad académica resultará en FRACASO en el curso y será reportada a las autoridades universitarias pertinentes.

Sistema de calificación: A, B, C, D, F

Libro de Texto: N/A

Bibliografía

Brown, J.K. (2011) Biotechnology: A Laboratory Skills Course, Student Edition. Bio-Rad Laboratories, Inc.: Hercules, CA.

Dehlinger, C.A. (2016) Molecular Biotechnology. Jones & Barlett, LLC: Burlington, MA.

Nelson, D. L. & Cox, M.M. (2017) Lehninger Principles of Biochemistry, 7th edition. W. H. Freeman: New York, NY.

Seidman, L.A., Kraus, M. E., Brandner, D.L., & Mowery, J. (2011) Laboratory Manual for Biotechnology and Laboratory Science: The Basics. Benjamin Cummings: San Francisco, CA.

Thiel, T., Bissen, S. T., & Lyons, E. M. (2002) Biotechnology: DNA to Protein – A Laboratory Project in Molecular Biology. McGraw- Hill: New York, NY.

Referencias electrónicas

Addgene. Plasmids 101: Colony PCR. <https://blog.addgene.org/plasmids-101-colony-pcr>

Integrated DNA Technologies. Designing PCR Primers and Probes.
<https://www.idtdna.com/pages/education/decoded/article/designing-pcr-primers-and-probes>.

New England Biolabs. Gibson Assembly® Cloning Kit. <https://international.neb.com/products/e5510-gibson-assembly-cloning-kit#Product%20Information>

New England Biolabs. NEB® 5-alpha Competent *E. coli* (High Efficiency).
<https://international.neb.com/products/c2987-neb-5-alpha-competent-e-coli-high-efficiency#Product%20Information>

ThermoFisher Scientific. BigDye® Direct Sanger Sequencing Kit.
<https://www.thermofisher.com/pr/en/home/life-science/sequencing/sanger-sequencing/sanger-sequencing-kits-reagents/bigdye-direct-sanger-sequencing-kit.html>

Portales electrónicos

DNA Learning Center, Cold Spring Harbor Laboratories. <https://www.dnalc.org/>

EMBL-EBI. Pfam. <https://pfam.xfam.org/>

Integrated DNA Technologies. Tools. <https://www.idtdna.com/pages>

National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

New England Biolabs. Tools and Resources. <https://www.neb.com/tools-and-resources>