

Anexo II

TITULACIÓN: Grado en Biología

MEMORIA INICIAL DEL TRABAJO FIN DE GRADO

CENTRO: Facultad de Ciencias Experimentales

CURSO ACADÉMICO: 2013-14



UNIVERSIDAD DE JAÉN

Facultad de Ciencias Experimentales

Título del Trabajo Fin de Grado:

Estudio comparativo de 3 genes para su uso como normalizador para PCR en tiempo real en plantas de girasol

1. DATOS BÁSICOS DE LA ASIGNATURA

NOMBRE: Trabajo Fin de Grado

CÓDIGO: 10216001

CARÁCTER: Obligatorio

Créditos ECTS: 12

CURSO: Cuarto

CUATRIMESTRE: Segundo

2. TUTORA

María Victoria Gómez Rodríguez

3. VARIANTE Y TIPO DE TRABAJO FIN DE GRADO

Experimental y específico

4. COMPETENCIAS (*) Y RESULTADOS DE APRENDIZAJE

Competencias generales:

CG6. Realizar análisis crítico de trabajos científicos y familiarizarse con su estructura.

CG7. Utilizar las fuentes de información dentro del ámbito de las Ciencias de la Vida.

CG9. Aplicar los principios básicos del pensamiento y del método científico.

Competencias transversales:

CT1. Adquirir capacidad de gestión de la información, análisis y síntesis

CT3. Ser capaz de comunicarse correctamente de forma oral y escrita en la lengua materna

CT4. Conocer una lengua extranjera

CT6. Desarrollar actitudes críticas basadas en el conocimiento

CT7. Ser capaz de realizar aprendizaje autónomo para el desarrollo continuo profesional

CT8. Ser capaz de adaptarse a nuevas situaciones y de tomar decisiones

CT9. Tener sensibilidad hacia temas de índole social y medioambiental

Competencias Específicas:

* Estas son las competencias mínimas. Añadir las competencias necesarias para cada Trabajo Fin de Grado propuesto

Resultados de aprendizaje

**Resultado
216001A**

Capacidad de integrar creativamente sus conocimientos para resolver un problema biológico real.



UNIVERSIDAD DE JAÉN

Resultado 216001B	Capacidad para estructurar una defensa sólida de los puntos de vista personales apoyándose en conocimientos científicos bien fundados.
Resultado 216001C	Destreza en la elaboración de informes científicos complejos, bien estructurados y bien redactados.
Resultado 216001D	Destreza en la presentación oral de un trabajo, utilizando los medios audiovisuales más habituales.

5. ANTECEDENTES

La reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR-RT) es una técnica muy útil para el análisis cuantitativo de la expresión de uno o varios genes en respuesta a tratamientos de distinta naturaleza.

Se asume que la cantidad de ADN de un determinado gen que se obtiene a través de amplificación mediante PCR es proporcional a la cantidad del ARNm que inicialmente estuviera presente en la muestra. Para que al comparar la expresión de un gen en dos muestras esto sea cierto, se determina la concentración de ARN y se utilizan cantidades iguales a la hora de llevar a cabo su transcripción inversa hacia ADNc y posteriormente se utiliza el mismo volumen de ADNc para llevar a cabo la PCR.

Puesto que no se pueden descartar errores de pipeteo o en la cuantificación inicial del ARN, la expresión en ambas muestras se calcula en relación a la de un gen normalizador. Un gen normalizador es aquel que tiene una expresión constitutiva y que no está sujeta a modificaciones relacionadas con factores tales como el tipo de célula, el estadio fenológico o factores de tipo biótico o abiótico.

Los genes normalizadores suelen desempeñar papeles esenciales en la fisiología celular.

6. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Según Amil-Ruiz et al. (2013) los genes normalizadores más utilizados en plantas son los que codifican para: ARNr 18S, gliceraldehido-3-P deshidrogenasa, factor de elongación-1 α , actina y α - y β -tubulina. Según estos mismos autores, hay datos que vienen a demostrar que algunos de estos genes pueden sufrir una alteración en su expresión en determinadas circunstancias.

Se pretende comprobar si 3 de estos genes (1ARN 18 S, actina y factor de elongación 1 α) tienen una expresión alterada en plantas de girasol infectadas por el oomicete *Plasmopara halstedii* y no son por tanto adecuados para su uso como normalizadores en estudios de expresión ligados a procesos de infección del oomicete en girasol.

7. BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES A REALIZAR

- Asepsia, siembra y cultivo de plántulas de girasol a partir de semillas
- Infección de semillas con el oomicete biotrofo *Plasmopara halstedii*
- Extracción de ARN total
- Electroforesis en geles de agarosa
- Tinción de geles
- Retrotranscripción de ARN en ADNc
- PCR en tiempo real
- Análisis estadístico de resultados
- Redacción del trabajo



UNIVERSIDAD DE JAÉN

8. DOCUMENTACIÓN/BIBLIOGRAFÍA

Amil-Ruiz F, Garrido-Gala J, Blanco-Portales R, Folta KM, Muñoz-Blanco J, et al. (2013) Identification and Validation of Reference Genes for Transcript Normalization in Strawberry (*Fragaria x ananassa*) Defense Responses. PLoS ONE 8(8): e70603. doi:10.1371/journal.pone.0070603

O. Radwan, S. Mouzeyar, P. Nicolas and M. F. Bouzidi. 2005. Induction of a sunflower CC-NBS-LRR resistance gene analogue during incompatible interaction with *Plasmopara halstedii*. *Journal of Experimental Botany*, **56**, (412), 567–575

9. CRONOGRAMA PROVISIONAL

Semanas 1-5 Tratamiento de semillas, cultivo de plántulas control e infectadas con *Plasmopara halstedii*. Recopilación y estudio de la bibliografía más interesante sobre el tema

Semanas 6-7 Extracción de ARN y determinación de su calidad y concentración, obtención de ADNc y realización de PCR-RT para los 3 genes objeto de estudio

Semanas 8 en adelante. Análisis e interpretación de resultados. Extracción de conclusiones, redacción del trabajo y preparación de la exposición oral

Nota informativa: Para completar este Anexo II se recomienda consultar la guía docente de la asignatura del Trabajo Fin de Grado que está disponible en el siguiente enlace:

https://uvirtual.ujaen.es/srv/es/informacionacademica/catalogoguiasdocentes/p/2012-13/2/102A/10216001/es/2012-13-10216001_es.html

Más información:

<http://www10.ujaen.es/conocenos/centros/facexp/trabajofingrado>