

Guia docent de l'assignatura "Tecnologia del DNA recombinant" 2011/2012

Codi: 100856

Crèdits ECTS: 3

Titulació	Pla	Tipus	Curs	Semestre
2500252 Bioquímica	814 Graduat en Bioquímica	OB	3	2

Contacte

Nom : Jaume Piñol Ribas

Email : Jaume.Pinyol@uab.cat

Utilització d'idiomes

Llengua vehicular majoritària: català (cat)

Algun grup íntegre en anglès: No

Algun grup íntegre en català: Sí

Algun grup íntegre en espanyol: Sí

Prerequisits

No hi ha prerequisits oficials. Tot i això, se suposa que l'estudiant ha adquirit els coneixements bàsics de Biologia Molecular impartits en assignatures prèvies del grau de Bioquímica.

Objectius i contextualització

La tecnologia del DNA recombinant inclou un conjunt de metodologies desenvolupades a partir dels anys setanta del segle passat. Aquestes metodologies són avui una eina bàsica en molts laboratoris de Bioquímica i han permès en els darrers anys un avenç molt important en el coneixement de l'estructura i la funció de les biomolècules. En aquesta assignatura es presentaran els fonaments d'aquesta tecnologia. En la primera part es tractaran els aspectes bàsics del clonatge en *Escherichia coli* i en la segona s'estudiaran temes més avançats, incloent el clonatge a eucariotes superiors. L'objectiu general de l'assignatura és donar els coneixements necessaris per al seguiment d'altres assignatures del grau de Bioquímica així com el de proporcionar una base sòlida que permeti a l'alumne iniciar-se en aquestes metodologies durant el seu futur professional.

Objectius concrets de l'assignatura:

- Conèixer i saber aplicar les tècniques bàsiques del DNA recombinant: sondatge, Southern i Northern blots, hibridació, arrays, seqüenciació, ús d'enzims de restricció i reacció de PCR.
- Descriure els principals vectors de clonatge a *Escherichia coli*, conèixer les seves característiques i saber com aplicar-les en les diferents estratègies per a la clonació de fragments de DNA.
- Comprendre les estratègies per a la construcció de genoteques i la seva utilització per a l'estudi de gens i genomes.
- Conèixer la metodologia per a la expressió de proteïnes recombinants i per a la mutagènesi dirigida.
- Conèixer les principals estratègies de clonatge en organismes eucariotes i les diferents tecnologies per a l'obtenció d'animals i plantes transgèniques.

Competències i resultats d'aprenentatge

1233:E12 - Aplicar les tècniques principals d'utilització en sistemes biològics: mètodes de separació i caracterització de biomolècules, cultius cel·lulars, tècniques de DNA i proteïnes recombinants, tècniques immunològiques, tècniques de microscòpia...

1233:E12.01 - Aplicar les tècniques bàsiques de la tecnologia del DNA recombinant

1233:E12.02 - Dissenyar el clonació d'un cDNA partint de mRNA per a l'expressió de proteïna recombinant

1233:E12.03 - Dissenyar un protocol bàsic per a l'obtenció de mutants d'una proteïna recombinant, la seva expressió i la seva purificació

1233:T02 - Interpretar resultats experimentals i identificar elements consistents i inconsistents.

1233:T02.00 - Interpretar resultats experimentals i identificar elements consistents i inconsistents.

1233:T03 - Aplicar els recursos informàtics per a la comunicació, la recerca d'informació, el tractament de dades i el càlcul.

1233:T03.00 - Aplicar els recursos informàtics per a la comunicació, la recerca d'informació, el tractament de dades i el càlcul.

1233:T04 - Llegir textos especialitzats tant a llengua anglesa com a les llengües pròpies.

1233:T04.00 - Llegir textos especialitzats tant a llengua anglesa com a les llengües pròpies.

1233:T08 - Saber fer una presentació oral, escrita i visual del seu treball a una audiència professional i no professional en anglès i entendre el llenguatge i propostes d'altres especialistes.

1233:T08.00 - Saber fer una presentació oral, escrita i visual del seu treball a una audiència professional i no professional en anglès i entendre el llenguatge i propostes d'altres especialistes.

1233:T09 - Col·laborar amb altres companys de treball.

1233:T09.00 - Col·laborar amb altres companys de treball.

Continguts

Temari classes teòriques

1. Clonatge a *Escherichia coli*. Plasmidis i fags com a vectors de clonatge a *E. coli*. Principals mètodes de transformació. Fagèmids i principals soques hoste. Sistemes d'integració per recombinació. Clonatge de productes de PCR.

2. Construcció i rastreig de bancs de cDNA. Síntesi de cDNA. Estratègies per a la construcció de bancs de cDNA. Representativitat. Principals vectors utilitzats en la construcció de bancs de cDNA. Rastreig de bancs de cDNA. RT-PCR com alternativa als bancs de cDNA. Amplificació ràpida dels extrems del cDNA. Bancs de subtracció de cDNA. *Expressed sequence tags*. *Arrays*: classes i quantificació dels resultats.

3. Bancs de DNA genòmic. Concepte general. Representativitat. Estratègies per a l'obtenció de bancs de DNA genòmic. Vectors de substitució. Còsmids. BACS, PACS i YACS. Rastreig de bancs de DNA genòmic. *Walking* i obtenció de sondes. Ordenació de *contigs*.

4. Mutagènesi *in vitro*. Concepte i usos. Mutacions silencioses. Mutagènesi dirigida i principals tècniques per a la seva realització: mutagènesi per "cassette", extensió d'un encebador o mitjançant PCR. Mutagènesi a l'atzar. Evolució molecular dirigida: *DNA shuffling* i tècniques relacionades. Anàlisis mutacionals sistemàtics.

5. Expressió de proteïnes recombinants. Factors que afecten l'expressió dels gens clonats a *E. coli*. Principals vectors d'expressió. Optimització de l'expressió de proteïnes recombinants. Gens sintètics. Proteïnes de fusió. *Phage display*. Sistemes de traducció *in vitro*.

6. Clonatge en bacteris diferents d'*E. coli*. Vectors d'ampli rang d'hoste pel clonatge a bacteris Gram negatius. Grups d'incompatibilitat i utilització dels mateixos. Transformació per transposició i transformació per recombinació homòloga. Els transposons com a vectors d'ampli rang d'hoste. Vectors suïcides. "Transposon tagging". Marcadors de contraselecció i obtenció de modificacions no marcades. Sistema *cre-lox*.

7. Clonatge en llevats. Clonatge en *Sacharomyces cerevisiae*: transformació i principals tipus de vectors. Mètode del doble híbrid per detectar interaccions proteïna-proteïna. Clonatge en altres tipus de llevats. Expressió de proteïnes recombinants.

8. Clonatge en eucariotes superiors. Vectors i mètodes de transformació de cèl·lules en cultiu de teixits. Factors de selecció. Promotors regulats. Gens *reporter*. Silenciament gènic. Obtenció de plantes

transgèniques. Obtenció d'animals transgènics.

Temari classes de problemes i seminaris

El contingut d'aquest apartat, que es lliurarà en forma de dossier al començament del semestre, consistirà en una quantitat determinada d'enunciats de problemes relacionats amb els temes desenvolupats a Teoria i en material bibliogràfic sobre les principals aplicacions pràctiques de la tecnologia del DNA recombinant.

Metodologia

Les activitats formatives consten de classes de teoria i de classes de problemes i seminaris. Cadascuna d'elles té la seva metodologia específica.

Classes de teoria

La professora explicarà el contingut del temari amb el suport de material audiovisual que estarà a disposició dels estudiants al Campus Virtual de l'assignatura, amb antelació. Aquestes sessions expositives constituïran la part més important de l'apartat de teoria. És recomanable que els estudiants disposin del material publicat al CV en forma impresa per tal de poder seguir les classes amb més comoditat.

Sota el guiatge del professor, els coneixements d'algunes parts del temari hauran de ser objecte d'aprofundiment per part dels estudiants, mitjançant aprenentatge autònom. Per tal de facilitar aquesta tasca es proporcionarà informació sobre localitzacions a llibres de text, articles, pàgines web, etc.

Classes de problemes i seminaris

Hi haurà 6 sessions de problemes, en les dades anunciades en el calendari. Per aquestes sessions, el grup de teoria es dividirà en dos subgrups de la mateixa mida, les llistes dels quals es faran públiques a començaments de curs. Els estudiants assistiran a les sessions programades pel seu grup. A començaments de semestre es lliurarà a través del Campus Virtual un dossier d'enunciats de problemes de l'assignatura que s'aniran resolent al llarg de les sessions. En aquestes sessions el professor exposarà els principis experimentals i de càlcul necessaris per treballar els problemes, explicant les pautes per a la seva resolució i reforçant mateix temps els coneixements de diferents parts de la matèria de les classes de teoria. En les darreres classes del semestre, una part de la classe de problemes es dedicarà a les presentacions curtes en format seminari de temes relacionats amb aplicacions pràctiques de la tecnologia del DNA recombinant. Aquestes presentacions seran preparades i exposades per grups petits d'alumnes (3-5 persones) prenent com a base al material bibliogràfic lliurat a començaments del semestre.

Activitats formatives

Activitat	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Tipus: Dirigides			
Classes de Problemes i Seminaris	6	0.24	1233:E12.01 , 1233:T02.00 , 1233:T03.00 , 1233:T09.00 , 1233:T08.00 , 1233:T04.00
Classes teòriques	18	0.72	1233:E12.01 , 1233:E12.02 , 1233:E12.03 , 1233:T04.00 , 1233:T02.00
Tipus: Autònomes			
Estudi individual	30	1.2	1233:E12.01 , 1233:E12.03 , 1233:T04.00 , 1233:E12.02
Estudi individual de problemes	15	0.6	1233:E12.01 , 1233:E12.02 , 1233:E12.03 , 1233:T03.00 , 1233:T02.00

Preparació de seminaris	5	0.2	1233:T04.00 , 1233:T09.00 , 1233:T08.00
-------------------------	---	-----	---

Avaluació

Una cop acabades les classes corresponents a l'assignatura és realitzarà una prova per tal d'avaluar el nivell d'assimilació dels coneixements així com la capacitat per relacionar conceptes i el raonament crític. Aquesta prova tindrà dues parts. La primera part consistirà en varies preguntes tipus test i també podrà incloure preguntes curtes. En la segona part, l'alumne haurà de resoldre dos problemes. Aquells alumnes que no hagin superat aquesta prova hauran realitzar una prova final que tindrà les mateixes característiques que l'anterior. Aquesta prova final també estarà oberta a qualsevol estudiant que desitgi millorar la nota obtinguda. La presentació a aquest examen per millorar nota NO comporta la renúncia a la qualificació obtinguda prèviament.

Un alumne rebrà la qualificació de "no presentat" només en el cas que no es presenti a cap de les dues proves anteriors (el número d'activitats d'avaluació realitzades haurà estat inferior al 50% de les programades per l'assignatura). La nota final serà la mitjana ponderada de les qualificacions obtingudes en la cada una de les parts de l'examen (65% primera part, 25% segona part). El 10% restant correspondrà a la qualificació obtinguda en els seminaris realitzats durant el curs.

Activitats d'avaluació

Activitat	Pes	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Examen	90%	0.75	0.03	1233:E12.01 , 1233:E12.02 , 1233:E12.03 , 1233:T03.00 , 1233:T02.00
Seminaris	10%	0.25	0.01	1233:E12.01 , 1233:T03.00 , 1233:T04.00 , 1233:T09.00 , 1233:T08.00

Bibliografia

La bibliografia i els enllaços web estan actualitzats en l'apartat de Material Docent del Campus Virtual de l'assignatura.