

**Tecnologia del DNA recombinant****2015/2016**

Codi: 100856

Crèdits: 3

| Titulació          | Tipus | Curs | Semestre |
|--------------------|-------|------|----------|
| 2500252 Bioquímica | OB    | 3    | 1        |

**Professor de contacte**

Nom: María Carmen Martínez Gómez

Correu electrònic: Carmen.Martinez@uab.cat

**Utilització de llengües**

Llengua vehicular majoritària: espanyol (spa)

**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**

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. 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.

**Competències**

- Aplicar els recursos informàtics per a la comunicació, la recerca d'informació, el tractament de dades i el càlcul.
- 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...
- Col·laborar amb altres companys de treball.
- Interpretar resultats experimentals i identificar elements consistents i inconsistents.
- Llegir textos especialitzats tant a llengua anglesa com a les llengües pròpies.
- 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.

**Resultats d'aprenentatge**

1. Aplicar els recursos informàtics per a la comunicació, la recerca d'informació, el tractament de dades i el càlcul.
2. Aplicar les tècniques bàsiques de la tecnologia del DNA recombinant
3. Col·laborar amb altres companys de treball.
4. Dissenyar el clonació d'un cDNA partint de mRNA per a l'expressió de proteïna recombinant
5. Dissenyar un protocol bàsic per a l'obtenció de mutants d'una proteïna recombinant, la seva expressió i la seva purificació
6. Interpretar resultats experimentals i identificar elements consistents i inconsistents.
7. Llegir textos especialitzats tant a llengua anglesa com a les llengües pròpies.
8. 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.

## Continguts

### Temari classes teòriques

#### **Tema 1.- Tècniques bàsiques de la tecnologia del DNA recombinant.**

Enzims utilitzats en DNA recombinant: enzims de restricció, polimerases, ligases. Mapes de restricció de DNA. Adaptadors i "linkers". Seqüenciació de DNA. Southern i Northern blot i les seves aplicacions. Desnaturalització del DNA i hibridació molecular.

#### **Tema 2.- Vectors de clonatge a *Escherichia coli*.**

Vectors basats en plasmidis: característiques de los diferents vectors, purificació de DNA plasmídic, transformació bacteriana, detecció de clons recombinants. Vectors basats en faigs filamentosos. Vectors basats en el faig lambda.

#### **Tema 3.- Construcció i rastreig de bancs de cDNA i de bancs de DNA genòmic.**

Síntesi de cDNA. Estratègies per a la construcció de bancs de cDNA. Estratègies per a l'obtenció de bancs de DNA genòmic. Principals vectors utilitzats en la construcció de bancs. Rastreig de bancs, tipus de sondes i marcatge. Bancs de subtracció de cDNA. Arrays.

#### **Tema 4.- Tipus d'estratègies de clonatge a *E. coli*.**

Plasmidis per a transcripció in vitro. Fagèmids. Sistema de excisió in vivo en faig lambda. Utilització de gens "reporter". Mutagènesi dirigida i principals tècniques per a la seva realització.

#### **Tema 5.- Expressió de proteïnes recombinants a *E. coli*.**

Factors que afecten l'expressió dels gens clonats a *E. coli*. Principals vectors d'expressió. Sistemes de traducció in vitro.

#### **Tema 6.- Clonatge en llevats.**

Clonatge en *S. cerevisiae*: transformació, tipus de vectors i expressió de proteïnes recombinants. Mètode del "two-hybrid" per detectar interaccions proteïna-proteïna.

### Temari classes de problemes

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.

## Metodologia

Les activitats formatives consten de classes de teoria i de classes de problemes. 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

Hi haurà 8 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.

## Activitats formatives

| Títol                          | Hores | ECTS | Resultats d'aprenentatge |
|--------------------------------|-------|------|--------------------------|
| <b>Tipus: Dirigides</b>        |       |      |                          |
| Classes de Problemes           | 8     | 0,32 | 1, 2, 3, 8               |
| Classes teòriques              | 16    | 0,64 | 2, 4, 5, 6, 7            |
| <b>Tipus: Autònomes</b>        |       |      |                          |
| Estudi individual              | 32    | 1,28 | 2, 4, 5, 7               |
| Estudi individual de problemes | 16    | 0,64 | 1, 2, 4, 5, 6            |

## 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. La segona part consistirà en la resolució de 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 comporta la renúncia a la qualificació obtinguda prèviament.

Un alumne rebrà la qualificació de "no avaluable" només en el cas que no es presenti a cap de les dues proves anteriors. La nota final serà la mitjana ponderada de les qualificacions obtingudes en cada una de les parts de l'examen (65% primera part, 35% segona part).

## Activitats d'avaluació

| Títol  | Pes  | Hores | ECTS | Resultats d'aprenentatge |
|--------|------|-------|------|--------------------------|
| Examen | 100% | 3     | 0,12 | 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7      |

## Bibliografia

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