

GUIA DOCENT

TECNOLOGIA DEL DNA RECOMBINANT

GRAU DE BIOTECNOLOGIA

Curs 2010-2011





1. Dades de l'assignatura

Nom de l'assignatura	TECNOLOGÍA DEL DNA RECOMBINANTE
Codi	100934
Crèdits ECTS	3
Curs i període en el que s'imparteix	Segon curs. Segon semestre
Horari	Consultar pàgina web de la Facultat http://www.uab.cat/biociencias
Lloc on s'imparteix	Facultat de Biociències. http://www.uab.cat/biociencias
Llengües	Castellà i català. El material del curs pot ser també en anglès

Professor/a de contacte

Nom professor/a	M. Carmen Martínez Gómez
Departament	Bioquímica i Biologia Molecular
Universitat/Institució	Universitat Autònoma de Barcelona
Despatx	C2-321
Telèfon	93 5813422
e-mail	carmen.martinez@uab.cat
Horari d'atenció	A convenir

2. Equip docent

Nom professor/a	M. Carmen Martínez Gómez
Departament	Bioquímica i Biologia Molecular
Universitat/Institució	Universitat Autònoma de Barcelona
Despatx	C2-321
Telèfon	93 5813422
e-mail	carmen.martinez@uab.cat
Horari de tutories	A convenir

(Afegiu tants camps com sigui necessari)



3.- Prerequisits

No hi ha prerequisits oficials.

4.- Contextualització i objectius formatius de l'assignatura

En aquesta assignatura es pretén donar les eines bàsiques del conjunt de tecnologies que es coneixen amb el nom de DNA recombinant. Aquestes tecnologies constitueix la base de la biotecnologia. Alguns dels temes que s'imparteixen en aquesta assignatura seran objecte d'aprofundiment en altres assignatures dels últims cursos del grau de biotecnologia. D'altra banda, l'aplicació dels coneixements adquirits al treball en el laboratori es realitzarà en les assignatures denominades "laboratori integrat 4", i "laboratori integrat 5".

Objectius concrets

- Conèixer i saber aplicar les tècniques bàsiques del DNA recombinant: Southern i Northern blots, hibridació, seqüenciació, marcatge, ús d'enzims de restricció, i reacció de PCR.
- Tenir un coneixement dels vectors de clonatge i de les principals estratègies per a clonar gens.
- Conèixer la metodologia per a la construcció de genoteques i la seva utilització.
- Conèixer la metodologia per a la expressió de proteïnes recombinants i per a la mutagènesi dirigida.
- Conèixer els principals estratègies de clonatge en diferents organismes eucariotes, i de les tecnologies per a la obtenció d'animals i plantes transgèniques.



5.- Competències i resultats d'aprenentatge de l'assignatura

Competència

CE3. Aplicar las principales técnicas asociadas a la utilización de sistemas biológicos: DNA recombinante y clonación, cultivos celulares, manipulación de virus, bacterias y células animales y vegetales, técnicas inmunológicas, técnicas de microscopía, proteínas recombinantes y métodos de separación y caracterización de biomoléculas.

Resultats d'aprenentatge

CE3.1 Dominar los métodos básicos de la tecnología del DNA recombinante
CE3.2 Diseñar estrategias para la secuenciación de genomas
CE3.3 Diseñar y ejecutar el clonaje de cDNAs para el análisis de la expresión génica y para la expresión de proteínas recombinantes
CE3.4 Describir y aplicar los diferentes métodos para la obtención de mutantes de una proteína recombinante y su purificación
CE3.5 Describir las estrategias utilizadas para la modificación del genoma de diferentes organismos

Competència

CT6 Leer textos especializados tanto en lengua inglesa como en las lenguas propias.

Competència

CT9 Trabajar de forma individual y en equipo.

Competència

CT11 Pensar de una forma integrada y abordar los problemas desde diferentes perspectivas.

6.- Continguts de l'assignatura

TEORÍA

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

Electroforesi de DNA. 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.

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

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. Walking.



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". Vectors especials pel clonatge de productes de PCR: gateway y topocloning. 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*. Optimització de l'expressió de proteïnes recombinants. Gens sintètics.. 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.

Tema 7.- Clonatge en eucariotes superiors.

Vectors i mètodes de transformació de cèl·lules animals. Factors de selecció. Animals transgènics. Mètodes d'obtenció de plantes transgèniques.

PROBLEMES

El contingut d'aquest apartat, que es lliurarà en forma de dossier al començament del semestre, consisteix en una quantitat determinada d'enunciats de problemes relacionats amb els temes desenvolupats a Teoria.

7.- Metodologia docent i activitats formatives

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 constituiran 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 de aprofundiment per part dels estudiants, mitjançant aprenentatge autònom. Per tal de facilitar aquesta tasca es proporcionarà informació sobre localitzacions a llibres de text, pàgines web, etc.

Classes de problemes

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 de problemes exposarà els principis experimentals i de càlcul necessaris per treballar els problemes, explicant les pautes per la seva resolució i reforçant mateix temps els coneixements de diferents parts de la matèria de les classes de teoria.

TIPUS D'ACTIVITAT	ACTIVITAT	HORES	RESULTATS D'APRENTATGE
-------------------	-----------	-------	------------------------

Dirigides

Classes magistrals	17	CE3.1, CE3.3, CE3.4, CE3.5, CT6, CT9, CT11
Classes de Problemes	6	CE3.1, CE3.3, CE3.4, CT9, CT11

Supervisades

Resolució de problemes	6	CE3.1, CE3.3, CE3.4, CT9, CT11
------------------------	---	--------------------------------

Autònomes

Estudi i resolució de exercicis pautats	47	CE3.1, CE3.3, CE3.4, CE3.5, CT6, CT9, CT11
---	----	--

8.- Avaluació

L'avaluació de l'assignatura es durà a terme mitjançant una avaluació continuada que consistirà en dues proves parcials, corresponents cadascuna a aproximadament una meitat del temari de teoria i de problemes. Cada prova de avaluació consistirà en respondre un qüestionari amb preguntes tipus test i en la resolució de un o dos problemes. Aquells alumnes que no hagin superat una o més proves parcials hauran realitzar una prova final per tal de recuperar aquestes proves parcials. La prova final també estarà oberta a qualsevol estudiant que, havent superat l'avaluació continuada, desitgi millorar la nota obtinguda.

La nota final es calcularà de la següent manera:

La nota final obtinguda es calcularà de la següent manera:

- a) Alumnes que han superat l'assignatura mitjançant les proves parcials:
 - 75% del promig de la primera part de cada prova parcial
 - 25% del promig de la segona part de cada prova parcial
- b) Alumnes que es presentin a l'examen final:
 - 75% del promig de la primera part de la prova final
 - 25% del promig de la segona part de la prova final

A efectes de qualificació es considerarà com a no presentat qualsevol alumne que:

- a) només hagi realitzat una o cap prova parcial i no s'hagi presentat a l'examen final

D'aquesta manera, es considerarà com a presentat qualsevol alumne que s'hagi presentat a un mínim de dues proves parcials, amb independència de si es presenta o no a la prova final.



ACTIVITATS D'AVALUACIÓ

HORES

RESULTATS D'APRENTATGE

Proves parcials	2	CE3.1, CE3.3, CE3.4, CE3.5, CT11
Examen final	3	CE3.1, CE3.3, CE3.4, CE3.5, CT11

9- Bibliografia i enllaços web

Bibliografia bàsica (per ordre alfabètic)

TEORIA

- **Principles of gene manipulation** 6^a Ed.

RW Old, RM Twyman and SB Primrose. Ed. Blackwell 2003

- **Molecular Biotechnology** 2^a Ed

Glick y Pasternak. ASM Press 1998

- **Recombinant DNA.** 2^a Ed.

JD Watson, M Gilman, J Witkowski, and M Zoller. Ed. Freeman 1992

- **Genes VIII.**

B Lewin. Ed. Pearson Prentice Hall 2004.

- **Molecular cloning. A laboratory manual.** 3^a Ed

J Sambrook i DW Russell. CSHL Press 2001

Enllaços web

Els enllaços Web s'han d'actualitzar en cada curs acadèmic. Es posaran en el CV a l'inici del curs.



10.- Programació de l'assignatura

Durant les dues primeres setmanes del curs només s'impartiran classes de teoria, segons l'horari següent: dilluns a les 17,00 h, dimecres a les 16, i dijous a les 17 h. Les aules seran les assignades per la Facultat per a aquests horaris (vegeu pàg. Web de la Facultat)
A partir de la tercera setmana començaran les classes de problemes. A partir de llavors només hi haurà dues classes de Teoria a la setmana (dilluns i dimecres, en el mateix horari anterior). Per a les classes de problemes es faran dos grups: un d'ells tindrà classe els dimecres i l'altre els dijous, ambdós a les 17 h.