

**Tecnologia del DNA recombinant****2012/2013**

Codi: 100934

Crèdits ECTS: 3

| Titulació                        | Pla                          | Tipus | Curs | Semestre |
|----------------------------------|------------------------------|-------|------|----------|
| 2500253 Graduat en Biotecnologia | 815 Graduat en Biotecnologia | OB    | 2    | 2        |

**Professor de contacte**

Nom: María Carmen Martínez Gómez

Correu electrònic: Carmen.Martinez@uab.cat

**Utilització d'idiomes**

Llengua vehicular majoritària: espanyol (spa)

Algun grup íntegre en anglès: No

Algun grup íntegre en català: No

Algun grup íntegre en espanyol: Sí

**Prerequisits**

No hi ha prerequisits oficials.

**Objectius**

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.

**Competències**

- Aplicar les principals tècniques associades a l'ús de sistemes biològics: DNA recombinant i clonació, cultius cel·lulars, manipulació de virus, bacteris i cèl·lules animals i vegetals, tècniques immunològiques, tècniques de microscòpia, proteïnes recombinants i mètodes de separació i caracterització de biomolècules.
- Llegir textos especialitzats tant a llengua anglesa com a les llengües pròpies.
- Pensar d'una forma integrada i abordar els problemes des de diferents perspectives.
- Treballar de forma individual i en equip.

## Resultats d'aprenentatge

1. Descriure i aplicar els diferents mètodes per a l'obtenció de mutants d'una proteïna recombinant i la seva purificació.
2. Descriure les estratègies utilitzades per a la modificació del genoma de diferents organismes.
3. Dissenyar estratègies per a la seqüenciació de genomes.
4. Dissenyar i executar el clonatge de cDNAs per a l'anàlisi de l'expressió gènica i per a l'expressió de proteïnes recombinants
5. Dominar els mètodes bàsics de la tecnologia del DNA recombinant .
6. Llegir textos especialitzats tant a llengua anglesa com a les llengües pròpies.
7. Pensar d'una forma integrada i abordar els problemes des de diferents perspectives.
8. Treballar de forma individual i en equip.

## Continguts

### TEORIA

#### 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.

#### 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.

#### 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.

## 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 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.

## Activitats formatives

| Títol                                   | Hores | ECTS | Resultats d'aprenentatge |
|-----------------------------------------|-------|------|--------------------------|
| <b>Tipus: Dirigides</b>                 |       |      |                          |
| classes de problemes                    | 6     | 0,24 | 1, 4, 5, 7, 8            |
| classes magistrals                      | 17    | 0,68 | 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8      |
| <b>Tipus: Autònomes</b>                 |       |      |                          |
| estudi i resolució de exercicis pautats | 44    | 1,76 | 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 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. Caldrà superar cada prova parcial per poder aprobar l'assignatura per parcials. Aquells alumnes que no hagin superat una prova parcial podran recuperar-la al examen final. La prova final també estarà oberta a qualsevol estudiant que, havent superat l'avaluació continuada, desitgi millorar la nota obtinguda. La presentació a l'examen final per millorar nota suposa la renúncia de les notes obtingudes en les proves parcials.

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 és 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

| Títol           | Pes | Hores | ECTS | Resultats d'aprenentatge |
|-----------------|-----|-------|------|--------------------------|
| Proves parcials | 100 | 4     | 0,16 | 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8   |
| examen final    | 100 | 4     | 0,16 | 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8   |

## Bibliografia

**Bibliografia bàsica** (per ordre alfabètic)

### TEORIA

- **Principles of gene manipulation** 6<sup>a</sup> Ed. RW Old, RM Twyman and SB Primrose. Ed. Blackwell 2003
- **Molecular Biotechnology** 2<sup>a</sup> Ed. Glick y Pasternak. ASM Press 1998
- **Recombinant DNA**. 2<sup>a</sup> 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<sup>a</sup> Ed J Sambrook i DW Russell. CSHL Press 2001
- **Gene cloning and DNA analysis. An introduction**. T.A. Brown. Ed. Wiley-Blackwell 2010