

Tecnologia del DNA recombinant**2013/2014**

Codi: 100934

Crèdits: 3

Titulació	Tipus	Curs	Semestre
2500253 Biotecnologia	OB	2	2

Professor de contacte

Nom: Jaume Piñol Ribas

Correu electrònic: Jaume.Pinyol@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**Biotecnologia**

- 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.-Estratègies de clonatge a Escherichia 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 *Sacharomyzes 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

El professor 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 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 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
Tipus: Dirigides			
classes de problemes	8	0,32	1, 4, 5, 7, 8
classes magistrals	17	0,68	1, 2, 4, 5, 6, 7, 8
Tipus: Autònomes			
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 prova escrita que tindrà dues parts. La primera part consistirà en respondre un qüestionari amb preguntes tipus test que també podrà incloure preguntes curtes. La segona part consistirà en la resolució de dos problemes. Per superar aquesta prova, l'alumne haurà de tenir una qualificació global (veure més abaix) igual o superior a 5. Aquells alumnes que no hagin superat la aquesta prova escrita hauran de presentar-se a l'examen de recuperació. Aquesta prova de recuperació també estarà oberta a qualsevol estudiant que desitgi millorar la nota obtinguda. La presentació a l'examen de recuperació per millorar nota NO suposa la renúncia de la nota prèvia.

La nota obtinguda es calcularà de la següent manera:

- 70% de la primera part de la prova final (o la de recuperació si s'escau).
- 30% de la segona part de la prova final (o la de recuperació si s'escau).

L'alumne obtindrà la qualificació de "No Presentat" quan valoració de totes les activitats d'avaluació realitzades

no li permeti assolir la qualificació global de 5 en el supòsit que hagués obtingut la màxima nota en totes elles.

Activitats d'avaluació

Títol	Pes	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Prova Final	100	3	0,12	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8
Recuperació	100	3	0,12	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8

Bibliografia

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
- Gene cloning and DNA analysis. An introduction. T.A. Brown. Ed. Wiley-Blackwell 2010