

Titulació	Tipus	Curs	Semestre
2500252 Bioquímica	OB	3	1

Professor de contacte

Nom: Inmaculada Ponte Marull

Correu electrònic: Inma.Ponte@uab.cat

Utilització d'idiomes a l'assignatura

Llengua vehicular majoritària: espanyol (spa)

Grup íntegre en anglès: No

Grup íntegre en català: No

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

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

Tema 1.- Tècniques bàsiques de la tecnologia del DNA recombinant. Enzims utilitzats en DNA recombinant: enzims de restricció. Adaptadors i "linkers". Mapes de restricció de DNA. Polimerases, exonucleasas, ligases, transcriptasa inversa y síntesis de cDNA. Seqüenciació de DNA (Sanger).

Tema 2. Tècniques d'hibridació Desnaturalització del DNA i hibridació molecular. Concepte de T_m i severitat de hibridació. Tipus de marcatge. Southern i Northern blot i les seves aplicacions. Tècniques de hibridació sense separació electroforètica: Dot-Blot, hibridación in situ, Fish. Tècniques de hibridació massiva: Microarrays.

Tema 3. Reacció en cadena de la polimersa (PCR) Introducció. Disseny i optimització de la reacció. Aplicacions. Tipus: RT-PCR. PCR quantitativa (Real Time PCR).

Tema 4.-Tècniques de Clonació. Esquema general de la clonació. Compatibilitat d'extrems. Lligació. Transformació bacteriana. Detecció de clons recombinants. Característiques generals dels vectors de clonatge generals a *Escherichia coli* : plasmidis i els bacteriòfags. Alguns exemples dels vectors tipus plasmidis. Vectors específics per sistemes alternatius de clonatge: sistemes d'integració per recombinació, sistemes de clonatge basats amb la topoisomerasa.

Tema 5: 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 (λ d'inserció). Sistema de excisió in vivo en fag λ . Rastreig de bancs de cDNA.. Bancs de subtracció de cDNA. "Expressed sequence tags(ESTs)". RT-PCR com alternativa als bancs de cDNA

Tema 6: Construcció i rastreig de bancs de DNA genòmic i la seva estratègia alternativa a nivell de la seqüenciació massiva. Concepte general. Representativitat. Estratègies per a l'obtenció de bancs de DNA genòmic. Principals vectors utilitzats en la construcció de bancs de cDNA (λ de substitució). Còsmids, BACS i YACS. Rastreig de bancs de DNA genòmic. Walking i obtenció de sondes (PCR invers).. Tecnologies per a la seqüenciació massiva d'àcids nucleics (NGS). Principals aplicacions de les tecnologies NGS.

Tema 7.- Expressió de proteïnes recombinants a *E. coli*. Factors que afecten l'expressió dels gens clonats a *E. coli*. Principals vectors d'expressió. Optimització de l'expressió de proteïnes recombinants, Proteïnes de fusió. "Phage display". Sistemes de traducció in vitro. Mutagènesi dirigida concepte i principals tècniques per a la seva realització.

Tema 8.- 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. En algunes de les classes els alumnes resoldran alguns problemes plantejats a la llista inicial.

Activitats formatives

Títol	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Tipus: Dirigides			
Classes de Problemes	8	0,32	1, 2, 3, 8
Classes teòriques	16	0,64	2, 4, 5, 6, 7
Tipus: Autònomes			
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 i/o algunes preguntes curtes per relacionar conceptes.

-La segona part consistirà en la resolució de problemes.

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).

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.

Activitats d'avaluació

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

Bibliografia

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