

Tecnología del DNA recombinante

Código: 100934
Créditos ECTS: 3

Titulación	Tipo	Curso	Semestre
2500253 Biotecnología	OB	2	2

Contacto

Nombre: Jaume Piñol Ribas
Correo electrónico: Jaume.Pinyol@uab.cat

Uso de idiomas

Lengua vehicular mayoritaria: catalán (cat)
Algún grupo íntegramente en inglés: No
Algún grupo íntegramente en catalán: Sí
Algún grupo íntegramente en español: No

Prerequisitos

No hay prerequisites especiales

Objetivos y contextualización

En esta asignatura se introduce todo un conjunto de metodologías y herramientas agrupadas bajo el nombre común de Tecnología del DNA recombinante. Estas metodologías, que se empezaron a desarrollar a finales del siglo pasado, son ahora uno de los pilares de Biotecnología moderna. El objetivo general de la asignatura es dar una base sólida que permita al alumno aplicar estas metodologías en el diseño de procesos biotecnológicos. Por otra parte, también se introducirán los conceptos y conocimientos necesarios para el seguimiento de asignaturas más especializadas de los últimos cursos del grado de Biotecnología. Los aspectos prácticos de esta asignatura se tratan en los Laboratorios Integrados 4 y 5.

Objetivos concretos

- Conocer y saber aplicar las técnicas básicas de DNA recombinante: construcción de sondas, Southern y Northern blot, secuenciación de ácidos nucleicos, uso de enzimas de restricción y reacción de PCR.
- Describir los principales vectores de clonaje en Escherichia coli, conocer sus características principales y saber cómo aplicarlas en las diferentes estrategias para el clonaje de fragmentos de DNA.
- Comprender las estrategias para la construcción de genotecas y su utilización para estudio de genes y genomas.
- Conocer los fundamentos y principales aplicaciones de las nuevas tecnologías para la secuenciación masiva de ácidos nucleicos (Next Generation Sequencing)
- Conocer la metodología para la expresión de proteínas recombinantes i para la mutagénesis dirigida

Contenido

TEORIA

Tema 1. Técnicas básicas de la Tecnología del DNA recombinante.
Objetivos de la Tecnología del DNA recombinante. Enzimas utilizados en DNA recombinante: enzimas de

restricción, polimerasas, ligasas. Restricción de DNA. Adaptadores y "linkers". Método de Sanger para la secuenciación de DNA. Desnaturalización del ADN e hibridación molecular. Reacción de PCR. Southern blot, Northern blot y sus aplicaciones.

Tema 2. Clonación en *Escherichia coli*.

Plásmidos y fagos como vectores de clonación en *E. coli*. Principales métodos de transformación. Fagémidos y principales cepas huésped. Sistemas de integración por recombinación. Clonación de productos de PCR.

Tema 3. Construcción y rastreo de bancos de cDNA. Síntesis de cDNA. Estrategias para la construcción de bancos de cDNA. Representatividad. Principales vectores utilizados en la construcción de bancos de cDNA. Sistema de excisión in vivo en fago lambda. Rastreo de bancos de cDNA. RT-PCR como alternativa a los bancos de cDNA. Amplificación rápida de los extremos del cDNA. Bancos de sustracción de cDNA. "Expressed sequence tags (ESTs)". Arrays: clases y cuantificación de los resultados.

Tema 4. Bancos de DNA genómico. Concepto general. Representatividad. Estrategias para la obtención de bancos de ADN genómico. Vectores de sustitución. Cósmidos y Fósmidos, BACs, PACs y YACs. Rastreo de bancos de ADN genómico. Walking y obtención de sondas. Ordenación de contigs. Tecnologías para la secuenciación masiva de ácidos nucleicos (Next generation sequencing, NGS). Principales aplicaciones de las tecnologías NGS.

Tema 5. Mutagénesis in vitro.

Concepto y usos. Mutaciones silenciosas. Mutagénesis dirigida y principales técnicas para su realización: mutagénesis por "cassette", extensión de un cebador o mediante PCR. Mutagénesis al azar. Evolución molecular dirigida: "DNA shuffling" y técnicas relacionadas.

Tema 6. Expresión de proteínas recombinantes.

Factores que afectan a la expresión de los genes clonados en *E. coli*. Principales vectores de expresión. Optimización de la expresión de proteínas recombinantes. Nada sintéticos. Proteínas de fusión. "Phage display". Sistemas de traducción in vitro.

Tema 7. Clonación en levaduras.

Clonación en *Saccharomyces cerevisiae*: transformación, tipo de vectores y expresión de proteínas recombinantes. Método del "two-hybrid" para detectar interacciones proteína-proteína. Otras levaduras de interés biotecnológico.

PROBLEMAS

El contenido de este apartado, que se entregará en forma de dossier al comienzo del semestre, consiste en una cantidad determinada de enunciados de problemas relacionados con los temas desarrollados en Teoría