

tecnología del DNA recombinante

Código: 100856
Créditos ECTS: 3

Titulación	Tipo	Curso	Semestre
2500252 Bioquímica	OB	3	1

Contacto

Nombre: Inmaculada Ponte Marull

Correo electrónico: Inma.Ponte@uab.cat

Uso de idiomas

Lengua vehicular mayoritaria: español (spa)

Algún grupo íntegramente en inglés: No

Algún grupo íntegramente en catalán: No

Algún grupo íntegramente en español: Sí

Prerrequisitos

No hay prerrequisitos oficiales. Sin embargo, se supone que el estudiante ha adquirido los conocimientos básicos de Biología Molecular impartidos en asignaturas previas del grado de Bioquímica.

Objetivos y contextualización

La tecnología del DNA recombinante incluye un conjunto de metodologías desarrolladas a partir de 1970-1980. Estas metodologías son hoy una herramienta básica en muchos laboratorios de Bioquímica y han permitido en los últimos años un avance muy importante en el conocimiento de la estructura y la función de las biomoléculas. En esta asignatura se presentarán los fundamentos de esta tecnología. El objetivo general de la asignatura es dar los conocimientos necesarios para el seguimiento de otras asignaturas del grado de Bioquímica así como el de proporcionar una base sólida que permita al alumno iniciarse en estas metodologías durante su futuro profesional.

Objetivos concretos de la asignatura:

- Conocer y saber aplicar las técnicas básicas del DNA recombinante: Marcaje de ácidos nucleicos, Southern y Northern blots, hibridación in situ, arrays, secuenciación, uso de enzimas de restricción, reacción de PCR, tecnología basada en el sistema CRISPR.
- Describir los principales vectores de clonación en *Escherichia coli*, conocer sus características y saber cómo aplicarlas en las diferentes estrategias para la clonación de fragmentos de DNA.
- Comprender las estrategias para la construcción de genotecas y su utilización para el estudio de genes y genomas. Entender los conceptos básicos para la construcción de genotecas: representatividad (genoma), complejidad y abundancia (cDNA). Diferencias entre las genotecas clásicas y las diseñadas para la secuenciación masiva. Describir algunas de las tecnologías de secuenciación masiva.
- Conocer la metodología para la expresión de proteínas recombinantes y para la mutagénesis dirigida.

Competencias

- Aplicar las técnicas principales de utilización en sistemas biológicos: métodos de separación y caracterización de biomoléculas, cultivos celulares, técnicas de DNA y proteínas recombinantes, técnicas inmunológicas, técnicas de microscopía...
- Aplicar los recursos informáticos para la comunicación, la búsqueda de información, el tratamiento de datos y el cálculo

- Colaborar con otros compañeros de trabajo
- Interpretar resultados experimentales e identificar elementos consistentes e inconsistentes
- Leer textos especializados tanto en lengua inglesa como en las lenguas propias
- Saber hacer una presentación oral, escrita y visual de su trabajo a una audiencia profesional y no profesional en inglés y entender el lenguaje y propuestas de otros especialistas

Resultados de aprendizaje

1. Aplicar las técnicas básicas de la tecnología del DNA recombinante
2. Aplicar los recursos informáticos para la comunicación, la búsqueda de información, el tratamiento de datos y el cálculo
3. Colaborar con otros compañeros de trabajo
4. Diseñar el clonaje de un cDNA partiendo de mRNA para la expresión de proteína recombinante
5. Diseñar un protocolo básico para la obtención de mutantes de una proteína recombinante, su expresión y su purificación
6. Interpretar resultados experimentales e identificar elementos consistentes e inconsistentes
7. Leer textos especializados tanto en lengua inglesa como en las lenguas propias
8. Saber hacer una presentación oral, escrita y visual de un trabajo a una audiencia profesional y no profesional en inglés

Contenido

Tema 1.- Introducción a la tecnología del DNA recombinante. Enzimas utilizados en DNA recombinante: enzimas de restricción, polimerasas, exonucleasas, ligasas, transcriptasa inversa y síntesis de cDNA, CRISPR.

Tema 2. Técnicas de hibridación. Desnaturalización del DNA y hibridación molecular. Concepto de T_m y severidad de hibridación. Tipos de marcaje. Southern, Northern blot y sus aplicaciones. Técnicas de hibridación sin separación electroforética: Dot-Blot, hibridación in situ, Fish. Técnicas de hibridación masiva: Microarrays.

Tema 3. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) Introducción. Diseño y optimización de la reacción. Aplicaciones. RT-PCR. PCR cuantitativa (PCR en tiempo real).

Tema 4.-Clonación. Esquema general de la clonación. Compatibilidad de extremos adaptadores y "linkers". Ligación. Transformación bacteriana. Detección de clones recombinantes. Características generales de los vectores de clonaje: plásmidos y bacteriófagos. Algunos ejemplos de los vectores tipo plásmidos. Vectores específicos por sistemas alternativos de clonación: sistemas de integración por recombinación, sistemas de clonación basados en la topoisomerasa.

Tema 5: Librerías de cDNA. Estrategias para la construcción de librerías de cDNA. Concepto de abundancia y complejidad de mRNA. Síntesis de cDNA. Principales vectores utilizados en la construcción de librerías de cDNA. Rastreo de bancos de cDNA. RT-PCR/ RNA-seq como alternativa a las librerías de cDNA. Otros métodos para la detección y estudio de los mRNA: "Expressed sequence tags (ESTs)" y/o RNAseq.

Tema 6: Librerías de DNA genómico vs proyectos genoma (secuenciación masiva del DNA). Concepto de Representatividad. Estrategias para la obtención de librerías de DNA genómico. Vectores utilizados en las librerías de DNA genómico: lambda de sustitución, cósmidos, BACS y YACS. "Walking" y obtención de sondas (PCR inverso). Estrategias y técnicas para la secuenciación masiva de ácidos nucleicos (NGS).

Tema 7.- Expresión de proteínas recombinantes a E. coli. Factores que afectan la expresión de los genes clonados en E. coli. Principales vectores de expresiones. Optimización de la expresión de proteínas recombinantes. "Phage display". Proteínas de fusión. Sistemas de traducción in vitro. Mutagénesis dirigida concepto y principales técnicas para su realización.

Tema 8.- Clonaje en levaduras. Clonaje en S. cerevisiae: transformación, tipología de vectores y expresiones de proteínas recombinantes. Método del "doble-híbrido" para detectar interacciones proteína-proteína.

Metodología

Las actividades formativas constan de clases de teoría y de clases de problemas. Cada una de ellas tiene su metodología específica.

Clases de teoría

La profesora explicará el contenido del temario con el apoyo de material audiovisual que estará a disposición de los estudiantes en el Campus Virtual de la asignatura, con antelación. Estas sesiones expositivas constituirán la parte más importante del apartado de teoría. Es recomendable que los estudiantes dispongan del material publicado en el CV en forma impresa para poder seguir las clases con más comodidad.

De la mano del profesor, los conocimientos de algunas partes del temario deberán ser objeto de profundización por parte de los estudiantes, mediante aprendizaje autónomo. Para facilitar esta tarea se proporcionará información sobre localizaciones en libros de texto, artículos, páginas web, etc.

Clases de problemas

Habrán 8 sesiones de problemas por grupo, en los datos anunciados en el calendario. Para estas sesiones, el grupo de teoría se dividirá en dos subgrupos del mismo tamaño, las listas de los que se harán públicas a comienzos de curso. Los estudiantes asistirán a las sesiones programadas por su grupo. A comienzos de semestre se entregará a través del Campus Virtual un dossier de enunciados de problemas de la asignatura que se irán resolviendo a lo largo de las sesiones.

En un número limitado de sesiones repartidas a lo largo del semestre, los profesores de problemas expondrán los principios experimentales y de cálculo necesarios para trabajar los problemas, explicando las pautas para su resolución, e impartiendo al mismo tiempo una parte de la materia complementaria a las clases de teoría.

Los estudiantes trabajarán los problemas fuera del horario de clase, en grupos de trabajo de dos y tres personas que se mantendrán durante todo el curso. En algunas de las sesiones de problemas cada uno de los grupos presentará la resolución de al menos uno de los problemas trabajados de manera autónoma.

Alguna de las sesiones de problemas se harán en el aula de informática.

Actividades

Título	Horas	ECTS	Resultados de aprendizaje
Tipo: Dirigidas			
Clase de problemas	8	0,32	2, 1, 3, 8
Clases de teoría	16	0,64	1, 4, 5, 6, 7
Tipo: Autónomas			
Estudio Individual	32	1,28	1, 4, 5, 7
Resolución autónoma de problemas	15	0,6	2, 1, 4, 5, 6

Evaluación

Para evaluar el nivel de asimilación de los conocimientos así como la capacidad para relacionar conceptos, el razonamiento crítico y otras competencias transversales, como capacidad de evaluar de manera crítica a los compañeros, o capacidad de trabajar en equipo, se realizarán una serie de actividades evaluativas de tipologías diferentes que estarán distribuidas a lo largo del curso.

Evaluación módulo de teoría (65%): Constará de dos actividades evaluativas de tipologías diferentes.

1) Evaluación individual mediante una prueba escrita de preguntas tipo test (respuesta múltiples) (35%)

2) Evaluación individual mediante una prueba escrita basada en preguntas cortas formuladas: (a) sobre aspectos individuales específicos, (b) sobre aspectos de relación entre varios apartados del programa y (c) utilización de los conocimientos para interpretar resultados experimentales y / o proponer las técnicas más adecuadas para llegar los objetivos planteados a la pregunta (30%)

No habrá nota mínima para promediar entre las dos pruebas. Los alumnos que no superen el conjunto de las dos pruebas con una nota igual o superior a 4 podrán recuperarlas en la fecha programada para el examen de recuperación al final del semestre. Para participar en la recuperación, el alumnado debe haber sido previamente evaluado en un conjunto de actividades el peso de las que equivalga a un mínimo de dos terceras partes de la calificación total de la asignatura o módulo.

Evaluación módulo de problemas (35%). Este módulo consta también de dos actividades evaluativas de tipologías diferentes:

1. Avaluació de la resolució de los problemas trabajados en equipo y expuestos en clase (15% de la nota final). Cada vez que un equipo expone un problema recibirá una calificación por parte del profesor. Si un equipo no está presente en el aula o se niega a exponer un problema recibirá una calificación de 0. La calificación final se calculará como la media entre las calificaciones de los problemas expuestos por un mismo equipo. La nota obtenida será la misma para todos los miembros del equipo, siempre y cuando todos ellos hayan preparado y expuesto de forma equivalente.

2. Evaluación individual mediante una prueba escrita (20% del total). Consistirá en la resolución de 1-2 problemas planteados por el profesor de la misma tipología que los trabajados durante el desarrollo de la actividad formativa de problemas. Los alumnos que no superen esta prueba con una nota igual o superior a 4 podrán recuperarla en la fecha programada para el examen de recuperación al final del semestre. Para participar en la recuperación, el alumnado debe haber sido previamente evaluado en un conjunto de actividades el peso de las que equivalga a un mínimo de dos terceras partes de la calificación total de la asignatura o módulo.

Consideraciones Generales

La evaluación de los módulos de Teoría y de Problemas son inseparables y para superar la asignatura el alumno debe participar, y ser evaluado de los dos módulos.

Las pruebas escritas de teoría y de problemas se harán conjuntamente en las fechas programadas y ya fijadas en el calendario.

La nota se obtiene por la media ponderada de cada uno de los módulos. Este promedio ponderado sólo se podrá hacer en el caso de que en las evaluaciones de los módulos de teoría y de problemas se haya obtenido una nota igual o superior a 4. Si no se cumple esta condición, la asignatura quedará evaluada con una calificación final de como máximo 4.

Para superar la asignatura es necesario obtener una calificación final igual o superior a 5

El alumnado obtendrá la calificación de "No Evaluable" cuando las actividades de evaluación realizadas tengan una ponderación inferior al 67% en la calificación final

Los alumnos que quieran mejorar su nota podrán presentarse al examen de mejora de nota al final del semestre, el cual tendrá lugar en la fecha programada para el examen de recuperación. El alumno que se presente a mejorar la nota renuncia a la nota obtenida las pruebas escritas que deberán realizarse a lo largo del curso.

Los alumnos que no puedan asistir a una prueba de evaluación individual por causa justificada y aporten la documentación oficial correspondiente al Coordinador de Grado, tendrán derecho a realizar la prueba en cuestión en otra fecha. El Coordinador de Grado velará por la concreción de esta con el profesor de la asignatura afectada.

Cualquier aspecto que no esté contemplado en esta guía seguirá la normativa de evaluación de la Facultad de Biociencias.

Actividades de evaluación

Título	Peso	Horas	ECTS	Resultados de aprendizaje
Evaluación de problemas resueltos de manera autónoma y expuestos en clase	15 %	1	0,04	2, 1, 4, 5, 6, 7
Evaluación del modulo de teoría: bloque de preguntas tipo respuesta multiple	35%	1	0,04	1, 4, 5, 6, 7
Evaluación modulo de problemas mediante un examen (resolución de problemas)	20%	1	0,04	2, 1, 4, 5, 6, 7
Evaluación modulo de teoría: bloque de preguntas cortas	30%	1	0,04	2, 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8

Bibliografía

La bibliografía y los enlaces web están actualizados en el apartado de Material Docente del Campus Virtual de la asignatura.