

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 la 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 e ingeniería de ácidos nucleicos: herramientas enzimáticas (restrictasas, polimerasas, quinasas, fosfatasas, ligasas, topoisomerasas, recombinasas específicas de sitio y nucleasas no específicas de secuencia), diferentes tipos de reacciones de PCR, construcción de sondas, Southern y Northern blot.
- Describir los principales vectores de clonaje, conocer sus características principales y saber como utilizarlos 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).
- Describir las principales aplicaciones del DNA recombinante para la obtención de mutaciones: mutagénesis dirigida, mutagénesis al azar y métodos de evolución molecular dirigida.
- Conocer la metodología para la expresión de proteínas recombinantes.

Competencias

- Aplicar las principales técnicas asociadas a la utilización de sistemas biológicos: DNA recombinante y clonación, cultivos celulares, manipulación de virus, bacterias y células animales y vegetales, técnicas inmunológicas, técnicas de microscopía, proteínas recombinantes y métodos de separación y caracterización de biomoléculas.
- Leer textos especializados tanto en lengua inglesa como en las lenguas propias.
- Pensar de una forma integrada y abordar los problemas desde diferentes perspectivas.
- Trabajar de forma individual y en equipo.

Resultados de aprendizaje

1. Describir las estrategias utilizadas para la modificación del genoma de diferentes organismos.
2. Describir y aplicar los diferentes métodos para la obtención de mutantes de una proteína recombinante y su purificación.
3. Diseñar estrategias para la secuenciación de genomas.
4. Diseñar y ejecutar el clonaje de cDNAs para el análisis de la expresión génica y para la expresión de proteínas recombinantes.
5. Dominar los métodos básicos de la tecnología del DNA recombinante.
6. Leer textos especializados tanto en lengua inglesa como en las lenguas propias.
7. Pensar de una forma integrada y abordar los problemas desde diferentes perspectivas.
8. Trabajar de forma individual y en equipo.

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 Fósmds, 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

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

El profesor 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. 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 científicos, páginas web, etc.

Prácticas de aula

Habrán 8 sesiones de prácticas de aula, en las fechas anunciadas 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 ejercicios y problemas de la asignatura que se irán resolviendo a lo largo de las sesiones. En estas sesiones el profesor de problemas expondrá los principios experimentales y de cálculo necesarios para trabajar los problemas, explicando las pautas para su resolución y reforzando mismo tiempo los conocimientos de diferentes partes de la materia de las clases de teoría. Para el buen funcionamiento de las prácticas de aula se requiere la participación activa del alumnado y que este intente preparar con antelación los problemas de cada sesión.

Actividades

Título	Horas	ECTS	Resultados de aprendizaje
Tipo: Dirigidas			
Clases de teoría	17	0,68	2, 1, 4, 5, 6, 7, 8
Prácticas de aula	8	0,32	2, 4, 5, 7, 8
Tipo: Autónomas			
Estudio y trabajo individual para resolución de ejercicios pautados	44	1,76	2, 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8

Evaluación

La asignatura se evaluará de forma continuada durante el curso. El 10% de la calificación global se calculará a partir la cantidad y calidad de las aportaciones hechas por cada alumno en el foro de la asignatura. También se realizarán dos exámenes. El primero tendrá un peso del 50% en la calificación global y será un prueba tipo test que también podrá incluir preguntas cortas y que evaluará fundamentalmente los contenidos de las clases de teoría. La segunda prueba, con un peso del 40% en la calificación global, será un examen de prácticas de aula y el alumno deberá resolver diferentes ejercicios y / o problemas similares a los realizados durante las clases de prácticas.

En caso de que el alumno no supere la asignatura podrá presentarse a las pruebas de recuperación. Sin embargo, 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. La primera prueba de recuperación consistirá en un examen tipo test que también podrá incluir preguntas cortas y que evaluará fundamentalmente los contenidos de las clases de teoría. La segunda prueba de recuperación será un examen de prácticas de aula y el alumno deberá resolver diferentes ejercicios y / o problemas similares a los realizados durante las clases de prácticas de aula. Las pruebas de recuperación estarán abiertas a cualquier estudiante que desee mejorar la nota obtenida. La presentación al examen de recuperación para mejorar nota no supone la renuncia de la nota previa. No se podrá recuperar la nota obtenida en la participación en el foro de la asignatura.

La calificación global de la asignatura se calculará de la siguiente manera:

- 50% del examen de teoría (o de la recuperación del mismo en su caso).
- 40% del examen de prácticas de aula (o de la recuperación del mismo en su caso).
- 10% de la participación en el foro de la asignatura.

No se pedirán notas mínimas para poder promediar cada una de las actividades de evaluación. Para superar la asignatura, el alumno deberá alcanzar al menos una calificación global de 5,0. El alumnado obtendrá la calificación de "No Evaluable" cuando las actividades de evaluación realizadas tengan una ponderación inferior al 67% en la calificación final.

Actividades de evaluación

Título	Peso	Horas	ECTS	Resultados de aprendizaje
Examen de prácticas de aula	40%	2,5	0,1	2, 3, 5, 6, 7, 8
Examen de teoría	50%	1	0,04	2, 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8
Participación en el fórum de la asignatura	10%	2,5	0,1	2, 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8

Bibliografía

La lista actualizada de la bibliografía del curso puede encontrarse en el Campus Virtual de la asignatura