

tecnología del DNA recombinante

Código: 100856
Créditos ECTS: 3

Titulación	Tipo	Curso	Semestre
2500252 Bioquímica	OB	3	1

La metodología docente y la evaluación propuestas en la guía pueden experimentar alguna modificación en función de las restricciones a la presencialidad que impongan las autoridades sanitarias.

Contacto

Nombre: Inmaculada Ponte Marull

Correo electrónico: Inma.Ponte@uab.cat

Uso de idiomas

Lengua vehicular mayoritaria: catalán (cat)

Algún grupo íntegramente en inglés: No

Algún grupo íntegramente en catalán: No

Algún grupo íntegramente en español: No

Prerequisitos

No hay prerequisitos 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.- Introducció a la tecnología del DNA recombinante. Enzimas utilitzados en DNA recombinante: enzimas de restricció, polimerases, exonuclases, ligases, transcriptasa inversa y síntesis de cDNA, CRISPR.

Tema 2. Técniques de hibridació. Desnaturalització del DNA y hibridació molecular. Concepto de Tm y severitat de hibridació. Tipos de marcate. Southern, Northern blot y sus aplicacions. Técniques de hibridació sin separació electroforètica: Dot-Blot, hibridació in situ, Fish. Tècniques de hibridació massiva: Microarrays.

Tema 3. Reacció en cadena de la polimeresa (PCR) Introducción. Diseño y optimització de la reacció. Aplicacions. RT-PCR. PCR cuantitativa (PCR en temps real).

Tema 4.-Clonació. Esquema general de la clonació. Compatibilitat de extrems adaptadores y "linkers". Ligació. Transformació bacteriana. Detecció de clones recombinants. Características generals de los vectores de clonació: plasmidis y bacteriofagis. Alguns exemplos de los vectores tipo plasmidis. Vectores específics per sistemes alternatius de clonació: sistemes de integració per recombinació, sistemes de clonació basats en la topoisomerasa.

Tema 5: Libreries de cDNA. Estratègies per la construcció de libreries de cDNA. Concepto de abundància y complejidad de mRNA. Síntesi de cDNA. Principals vectores utilitzados en la construcció de libreries de cDNA. Rastreo de bancos de cDNA. RT-PCR/ RNA-seq com alternativa a les libreries de cDNA. Altres mètodes per la detecció i estudi de les mRNA: "Expressed sequence tags (ESTs)" y/o RNAseq.

Tema 6: Libreries de DNA genòmic vs projectes genoma (secuenciació masiva del DNA). Concepto de Representativitat. Estratègies per la obtenció de libreries de DNA genòmic. Vectores utilitzados en les libreries de DNA genòmic: lambda de substitució, còsmidis, BACS y YACS. "Walking" y obtenció de sondes (PCR inversa). Estratègies i tècniques per la secuenciació masiva de àcids nucleics (NGS).

Tema 7.- Expresió de proteïnes recombinants a E. coli. Factors que afecten la expresió de les genes clonats en E. coli. Principals vectores de expressió. Optimització de la expresió de proteïnes recombinants. Proteïnes de fusió. Sistemes de traducció in vitro. Mutagenesi dirigida (concepte i mètodes) vs Evolució molecular (Phage display).

Tema 8.- Clonació en levadures. Clonació en S. cerevisiae: transformació, tipologia de vectores y expressió de proteïnes recombinants. Mètode del "doble-híbrid" per detectar interaccions proteïna-proteïna.

A menos que las restricciones impuestas por las autoridades sanitarias obliguen a una priorización o reducción de estos contenidos.

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

Habrá 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.

La metodología docente propuesta puede experimentar alguna modificación en función de las restricciones a la presencialidad que impongan las autoridades sanitarias.

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, es 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. Avalació de la resolución 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 decomomáximo 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 realizar 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 otro 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.

La evaluación propuesta puede experimentar alguna modificación en función de las restricciones a la presencialidad que impongan las autoridades sanitarias.

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.