

**DNA Recombinant: Fonaments i Aplicacions
Avançades**

Codi: 42895
Crèdits: 9

Titulació	Tipus	Curs	Semestre
4313794 Bioquímica, Biologia Molecular i Biomedicina	OT	0	A

Professor/a de contacte

Nom: Alicia Roque Cordova

Correu electrònic: alicia.roque@uab.cat

Idiomes dels grups

Podeu accedir-hi des d'aquest [enllaç](#). Per consultar l'idioma us caldrà introduir el CODI de l'assignatura. Tingueu en compte que la informació és provisional fins a 30 de novembre de 2023.

Equip docent

Joaquin Ariño Carmona

Josep Antoni Biosca Vaque

Inmaculada Ponte Marull

Antonio Jesus Casamayor Gracia

Jaume Piñol Ribas

Nerea Roher Armentia

Irantzu Pallares Goitiz

Jordi Moreno Romero

Equip docent extern a la UAB

David Corujo

Prerequisits

Per llicenciats o graduats en Bioquímica, Biotecnologia, Biologia, Ciències Biomèdiques, Genètica, Microbiologia, Química, Informàtica, Física, Veterinària, Farmàcia o Medicina

En qualsevol cas, es recomana conèixer les tècniques bàsiques de DNA recombinant.

Objectius

L'objectiu principal del curs és el de proporcionar una formació avançada i rigorosa, alhora que didàctica, de la diversitat de tècniques de DNA recombinant, tant bàsiques com avançades. Així, en finalitzar el mòdul l'alumne haurà aconseguit un coneixement sòlid sobre les diferents tècniques que impliquen la manipulació de DNA recombinant utilitzades actualment en els laboratoris d'investigació, així com les seves utilitats i limitacions.

En finalitzar el mòdul, l'estudiant serà capaç de:

1. Entendre els procediments metodològics i identificar les eines instrumentals actuals basades en la tecnologia del DNA recombinant per respondre qüestions essencials en múltiples àrees de recerca, com són la l'estructura del DNA, l'estructura i funció de la cromatina, l'avaluació de l'expressió i la seva regulació, la traducció i la localització subcel·lular de les proteïnes, etc.
2. Dissenyar i realitzar experiments utilitzant les tècniques experimentals de DNA recombinant més apropiades per a cada objectiu concret.
3. Analitzar i interpretar adequadament, així com avaluar de manera crítica, les dades experimentals tant propis com publicats en la literatura científica.
4. Definir i comprendre les tècniques específiques per a determinats organismes utilitzats com a models d'experimentació als laboratoris d'investigació, així com les seves utilitats i limitacions.

Competències

- Analitzar els resultats de la recerca per a obtenir nous productes biotecnològics o biomèdics i transferir-los a la societat
- Analitzar i interpretar correctament els mecanismes moleculars que operen en els éssers vius i identificar-ne les aplicacions.
- Aplicar les tècniques de modificació dels éssers vius o part d'aquests per millorar processos i productes farmacèutics i biotecnològics, o per desenvolupar nous productes.
- Desenvolupar el raonament crític en l'àmbit d'estudi i en relació amb l'entorn científic o empresarial.
- Identificar i proposar solucions científiques a problemes relacionats amb la investigació biològica a nivell molecular i demostrar una comprensió de la complexitat bioquímica dels éssers vius.
- Integrar els continguts en bioquímica, biologia molecular, biotecnologia i biomedicina des del punt de vista molecular.
- Que els estudiants sàpiguen aplicar els coneixements adquirits i la seva capacitat de resolució de problemes en entorns nous o poc coneguts dins de contextos més amplis (o multidisciplinaris) relacionats amb la seva àrea d'estudi.
- Que els estudiants sàpiguen comunicar les seves conclusions, així com els coneixements i les raons últimes que les fonamenten, a públics especialitzats i no especialitzats d'una manera clara i sense ambigüitats
- Que els estudiants tinguin les habilitats d'aprenentatge que els permetin continuar estudiant, en gran manera, amb treball autònom a autodirigit
- Treballar individualment i en equip en un context multidisciplinari.
- Utilitzar i gestionar informació bibliogràfica i recursos informàtics relacionats amb la bioquímica, la biologia molecular o la biomedicina.
- Utilitzar terminologia científica per a argumentar els resultats de la recerca i saber comunicar-los oralment y per escrit.

Resultats d'aprenentatge

1. Analitzar els resultats de la recerca per a obtenir nous productes biotecnològics o biomèdics i transferir-los a la societat
2. Analitzar i interpretar adequadament, i també avaluar de manera crítica les dades experimentals tant pròpies com publicades en la literatura científica.

3. Decidir sobre l'organisme més convenient a utilitzar en funció de les necessitats concretes.
4. Desenvolupar el raonament crític en l'àmbit d'estudi i en relació amb l'entorn científic o empresarial.
5. Dissenyar i dur a terme experiments utilitzant les tècniques experimentals de DNA recombinant més apropiades per a cada objectiu concret.
6. Distingir les bases de les tècniques estàndard utilitzades més habitualment en l'àmbit de la biologia molecular.
7. Entendre els procediments metodològics i identificar les eines instrumentals actuals, els seus avantatges i limitacions per a la investigació en aquest camp (estructura de la cromatina, expressió gènica i la seva regulació, processament dels mRNA, etc.).
8. Introduir les modificacions necessàries per incrementar el rendiment.
9. Que els estudiants sàpiguen aplicar els coneixements adquirits i la seva capacitat de resolució de problemes en entorns nous o poc coneguts dins de contextos més amplis (o multidisciplinaris) relacionats amb la seva àrea d'estudi.
10. Que els estudiants sàpiguen comunicar les seves conclusions, així com els coneixements i les raons últimes que les fonamenten, a públics especialitzats i no especialitzats d'una manera clara i sense ambigüitats
11. Que els estudiants tinguin les habilitats d'aprenentatge que els permetin continuar estudiant, en gran manera, amb treball autònom a autodirigit
12. Treballar individualment i en equip en un context multidisciplinari.
13. Utilitzar i gestionar informació bibliogràfica i recursos informàtics relacionats amb la bioquímica, la biologia molecular o la biomedicina.
14. Utilitzar terminologia científica per a argumentar els resultats de la recerca i saber comunicar-los oralment y per escrit.

Continguts

El contingut d'aquest mòdul és el següent:

1) Introducció a les tècniques de Biologia Molecular bàsiques.

1.1. Principis de la clonació de gens i l'anàlisi del DNA.

- Amplificació, marcatge i detecció dels àc. nucleics.
- Tipus de vectors, estratègies de clonació molecular del DNA i genoteques de DNA.
- Mutagènesi dirigida del DNA.

1.2. Aplicacions de la clonació de gens i l'anàlisi del DNA per a l'estudi de l'expressió gènica.

- Tècniques per a l'estudi de l'expressió gènica basades en microarrays de DNA i en la seqüenciació massiva del DNA (RT-PCR, Run On, microarrays de DNA, *footprinting*, anàlisi de promotors mitjançant gens reporter, seqüenciació massiva des mRNAs, ChIP-Seq, GRO-Seq, etc.).

2) Característiques d'organismes model d'ús comú.

3) Tècniques per a l'estudi dels mecanismes epigenètics que regulen l'estructura de la cromatina i la seva implicació en la replicació, transcripció i reparació del DNA eucariota.

- Determinació de regions heterocromatina i eucromatina (microscòpia/sensibilitat a nucleases/gradients de densitat/corbes de precipitació de cromatina, etc.).

- Modificacions de les histones (codi de les histones). ChIP, ChIP-xip, ChIP-seq i altres.

- Metilació del DNA. Identificació metilació en una seqüència. Caracterització del grau de metilació en les illes CpG. Construcció del metiloma.

- Mètodes d'alta i baixa resolució per caracteritzar el posicionament dels nucleosomes i la identificació dels llocs d'hipersensibilitat a nucleases (End labelling, *Footprintingin vivo*, LM-PCR, etc).
 - Metodologia d'estudi dels Complexos Remodeladors de la cromatina.
 - Tècniques pel estudi de la organització tridimensional del genoma (Hi-C).
 - Aplicacions de les tècniques epigenètiques a l'estudi de l'impremta genòmica en plantes.
- 4) Estratègies de modificació de genomes i silenciament gènic (RNA antisentit, tècniques de KO, ribozims, transgènics, ús de promotors regulables, etc.).
 - 5) Expressió de proteïnes. Característiques dels diversos sistemes d'expressió de proteïnes (tipus de vectors, promotors, organismes, etc). Estudi de la localització intracel·lular de proteïnes.
 - 6) Detecció d'interacció entre proteïnes.
 - 7) Aplicacions de la tecnologia de DNA recombinant en indústria i medicina (diagnòstic, enginyeria d'anticossos, metabòlica, etc).
 - 8) Presentació i defensa d'un treball bibliogràfic.
 - 9) Resolució de casos pràctics.
 - 10) Pràctiques de laboratori. 24 h de pràctiques, distribuïdes en 8 sessions amb durada variable (2-4h/sessió). **Yeast two hybrid**, PCR, anàlisi de dades de RNA-seq, immunoprecipitació de cromatina, q-PCR, bases de dades de seqüències de DNA i eines d'anàlisi.
 - 11) Seminaris d'experts en els temes abastats pel curs,

Metodologia

Una part de la docència serà presencial i comprendrà classes magistrals, el treball de laboratori i l'assistència a les defenses dels treballs bibliogràfics com es detalla a continuació. S'exclueix la assistència als seminaris programats, que formen part del Mòdul 2, Seminaris avançats en Bioquímica, Biologia Molecular i Biomedicina.

Presencial/Dirigides (60 h)

- Classes magistrals i seminaris: 32 h
- Treball de laboratori 24 h
- Exposició i defensa dels treballs bibliogràfics: 4 h

Un altre part serà d'estudi autònom per part de l'alumne, i inclou l'execució de proves i exercicis plantejats al llarg del curs.

Autònomes

- Estudi autònom de l'alumne: 67.5 h
- Proves teòric-pràctiques al llarg del curs (resolució de casos i problemes): 24h

La preparació per part dels alumnes d'un treball bibliogràfic serà la principal activitat supervisada.

Supervisades (47 h)

- Preparació d'un treball bibliogràfic: 47 h

Nota: es reservaran 15 minuts d'una classe, dins del calendari establert pel centre/titulació, per a la complementació per part de l'alumnat de les enquestes d'avaluació de l'actuació del professorat i d'avaluació de l'assignatura/mòdul.

Activitats formatives

Títol	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Tipus: Dirigides			
Classes magistrals/expositives	32	1,28	2, 3, 4, 6, 7, 8, 11
Presentacion dels treballs	4	0,16	1, 2, 4, 6, 7, 9, 11, 12, 13, 14
Pràctiques de laboratori	24	0,96	2, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13
Tipus: Supervisades			
Preparació d'un treball bibliogràfic	47	1,88	1, 2, 4, 6, 7, 9, 11, 12, 13, 14
Tipus: Autònomes			
Estudi autònom de l'alumne	67,5	2,7	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 13
Proves teòric-pràctiques al llarg del curs (resolució de casos i problemes)	24	0,96	2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13

Avaluació

Per aprovar aquest mòdul la nota final, calculada com la mitjana ponderada de les activitats d'avaluació, ha de ser com a mínim 5 punts.

En els casos on la mitjana ponderada obtinguda és menor que 5 hi haurà la possibilitat d'un examen de recuperació. Per participar a la recuperació, l'alumnat ha d'haver estat prèviament avaluat en un conjunt d'activitats el pes de les quals equivalgui a un mínim de dues terceres parts de la qualificació total de l'assignatura o mòdul. Per tant, l'alumnat obtindrà la qualificació de "No Avaluable" quan les activitats d'avaluació realitzades tinguin una ponderació inferior al 67% en la qualificació final.

Important: Si es detecta plagi en qualsevol dels treballs entregats podrà comportar que l'alumne suspengui el mòdul sencer.

Activitats d'avaluació continuada

Títol	Pes	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Exposició i defensa oral d'un treball	40%	0,5	0,02	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14

Resolució de problemes presentats pels professors, al llarg del curs.	30 %	24	0,96	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 12, 13, 14
Sessions pràctiques	30%	2	0,08	1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12

Bibliografia

* Molecular Cloning: A Laboratory Manual.

John J. Sambrook, David David William Russell.

Cold Spring Harbor Laboratory Press; 4th edition. 2012.

* Current Protocols in Molecular Biology

Ausubel et al.

J. Willey, 2012. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mbprefs98>

* Gene Cloning and DNA Analysis: An Introduction (6th edition).

T.A. Brown.

Wiley-Blackwell; 6th edition, 2013.

* Lewin's GENES XII.

Jones & Bartlett Learning. 2017.

* Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA.

Bernard R. Glick, Jack J. Pasternak, Cheryl L. Patten.

ASM Press; 5th edition. 2017.

* Next-Generation DNA Sequencing Informatics.

Stuart M. Brown

Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2013.

* Diverses revisions en revistes com: Current Opinion in Structural Biology, Trends in Biochemical Sciences, Trends in Biotechnology, Nature Biotechnology, Nature Methods, etc.

Programari

A continuació, es llisten les bases de dades i eines d'anàlisi utilitzades en aquest mòdul:

Bases de dades:

- NCBI Gene <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>

- SGD (<https://www.yeastgenome.org/>)

- Expasy (<https://www.expasy.org/>)

Eines d'anàlisi:

- BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>)

- Snapgene (<https://www.snapgene.com/>),

- GraphPad

- Bowtie2 v2.4.4 (<http://bowtie-bio.sourceforge.net/bowtie2/index.shtml>)

- bowtie2-align-l.exe
- bowtie2-align-s.exe
- bowtie2-build-l.exe
- bowtie2-build-s.exe
- bowtie2-inspect-l.exe
- bowtie2-inspect-s.exe
- Running scripts in Python and Perl

- BWA-mem V.0.7.17 (<https://sourceforge.net/projects/bio-bwa/files/>)

- Cutadapt V3.4, running in Python 3.0. (<https://cutadapt.readthedocs.io/en/stable/>)

- featureCounts v2.0.2 (<https://sourceforge.net/projects/subread/files/subread-2.0.2/>)

- Glimmer3 V3.02 (<http://ccb.jhu.edu/software/glimmer/index.shtml>)

- Java

- Varna393.jar (<http://varna.lri.fr/index.php?lang=en&page=downloads&css=varna>)
- gview.jar V1.7 (<https://github.com/phac-nml/gview-wiki/wiki/Downloads>)
- VarScan.v2.3.4.jar (<https://sourceforge.net/projects/varscan/files/>)

- mEMBOSS suite V6.5 (<ftp://emboss.open-bio.org/pub/EMBOSS/>)

- vectorstrip
- Getorf

- NCBI blast suite V2.11 (<https://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/blast/executables/blast+/LATEST/>)

- blast_formatter.exe
- blastn.exe
- blastp.exe
- blastx.exe
- makeblastdb.exe

- Primer3 V2.4.0 (<https://sourceforge.net/projects/primer3/files/primer3/2.4.0/>)

- R-4.0.0

- ContigStats.R (<https://gist.github.com/jlhg/4642041>)
- FastqQuality.R
(<http://www.sthda.com/english/wiki/fastqcr-an-r-package-facilitating-quality-controls-of-sequencing-data-fo>)
- scrDESeq2.R (<https://bioconductor.org/packages/release/bioc/html/DESeq2.html>)
- tradis_essentiality.R (
https://github.com/sanger-pathogens/Bio-Tradis/blob/master/bin/tradis_essentiality.R)

- Samtools V1.12 (<http://www.htslib.org/download/>)

- SPAdes 3.15.2 (<https://cab.spbu.ru/software/spades/>)

- trf409.exe (<https://tandem.bu.edu/trf/trf.download.html>)
- Velvet V1.2.10 (<https://www.ebi.ac.uk/~zerbino/velvet/>)
 - velvetg.exe
 - velveth.exe