

0/15

Edifici de Farmàcia, 50 anys

Curs
2007-08



ENGINYERIA GENÈTICA



Ensenyament de Farmàcia

Enginyeria Genètica

- Codi 243056
- Curs 2007-2008
- Departament 5954300 Dept. Bioquímica i Biologia Molecular (Farmàcia)
- Crèdits 6



Recomanacions

Es recomana haver cursat prèviament les assignatures de Bioquímica i Biologia Molecular i Genòmica.

Objectius

Referits a coneixements

L'objectiu de l'assignatura és presentar les tècniques més avançades de manipulació del DNA, i l'aplicació d'aquestes tècniques en l'estudi de processos biològics, biotecnològics i relacionats amb la sanitat. Es pretén que, un cop cursada l'assignatura, l'alumne pugui accedir i comprendre els avenços que dia a dia es produeixen en el coneixement biològic utilitzant la tecnologia del DNA recombinant. El programa teòric que aquí s'adjunta ha estat elaborat amb l'ànim d'ofrir una visió avançada de la tecnologia del DNA recombinant, i s'ha fet sobre la base que l'alumne ja té coneixements de Bioquímica general i de Biologia Molecular.

Temari

Programa de classes teòriques

1 Tecnologia del DNA recombinant

Enzims utilitzats en la manipulació del DNA: enzims de restricció, polimerases, quinases, ligases i nucleases. Preparació i anàlisi del DNA Seqüenciació de DNA. Programas d'anàlisis de seqüència de DNA ó proteïnes. Construcció de molècules híbrides de DNA. Transformació de cèl·lules procariotes. Esquelet d'un Vector. Tècniques d'hibridació. Les sondes com a estratègia en l'estudi de seqüències específiques de DNA. Anàlisi massiva de l'expressió gènica: DNA arrays, DNA chips.

2 Tècniques i aplicació avançada de PCR

PCR a partir d'mRNA (RT-PCR). Descontaminació amb uracil DNA glucosidasa.ús de PCR en la determinació d'infeccions virals o bacterianes (NESTED PCR). Aïllament de cDNA per PCR (RACE, SMART RACE). PCR quantitatius a temps real (TaqMan). L'ús del PCR en l'anàlisi massiva de la expressió gènica (SAGE, TOGA). Mètodes isotèrmics d'amplificació (NASBA).

3 Clonatge de gens

Vectors de clonatge. Construcció de bancs de DNA genòmic i de cDNA. Estratègies de clonatge. Hibridació diferencial. Subtracció de bancs i sondes. Anticossos amb sonda. Sistemes two-hybrid Clonatge per expressió. In silico cloning.

4 Mutagènesi

Mutagènesi in vitro com a eina per estudiar l'expressió gènica. Mutacions per inserció. Mutacions per deleció. Anàlisi de promotors mitjançant mutagènesi. Substitucions a l'atzar de nucleòtids per modificació química. Mutagènesi dirigida mitjançant oligonucleòtids. Mutagènesi per cassetts d'oligonucleòtids. La tècnica de la PCR aplicada a la mutagènesi: Overlapping extension.

5 Transfecció i selecció de gens en cèl·lules de mamífers

Les línies cel·lulars com a receptors del DNA transfectat. Mètodes de transfecció: fosfat càlcic, transfecció mitjançant liposomes, electroporació, transfecció mediada per retrovirus. Transfeccions transitòries i estables. Marcadors gènics seleccionables. Cotransfeccions. L'amplificació gènica com a mètode d'incrementar l'expressió proteica. RNA antisentit i oligonucleòtids antisentit

6 Anàlisi de la funció gènica mitjançant la utilització d'animals transgènics

Obtenció d'animals transgènics per microinjecció. Cèl·lules pluripotencials. Expressió transgènica tissular específica. Recombinació homòloga. Knock out de gens i efectes de la pèrdua de la funció gènica. El sistema Cre-lox. Knock in. Animals transgènics com a model per estudiar malalties en els humans.

7 Enginyeria genètica en plantes

Obtenció de plantes transgèniques: Agrobacterium tumefaciens i el plasmidi Ti. Altres mètodes de transformació: microbombardeig, vectors virals, i transformació de plastidis. Arabidopsis thaliana com a planta model en genòmica. Aplicacions de les plantes transgèniques en recerca i biotecnologia.

8 Senyalització cel·lular

Estratègies d'estudi de les rutes de transducció de la senyal. Utilització de formes actives constitutives i dominants negatives. Tècniques freqüentment emprades. Organismes model d'estudi.

9 Teràpia Gènica

Definició. Teràpia gènica "in vivo" i "ex vivo". Vectors virals i no virals. Teràpia gènica mitjançant oligonucleòtids tríplex, antisentit i aptàmers. Ribozims.

Programa de seminaris

- 1 Sistemes massius d'anàlisi de l'expressió gènica (High throughput Screening)
- 2 Identificació i estudi dels gens. El projecte genoma humà
- 3 Mètodes de detecció de mutacions que afecten a gens humans
- 4 Proteòmica
- 5 Sistemes utilitzats per l'expressió de proteïnes recombinants
- 6 Enginyeria metabòlica de la biosíntesi d'isoprenoides en plantes
- 7 Determinació dels processos de proliferació i mort cel·lular

8 SELEX. Desenvolupament de fàrmacs per mètodes combinatoris

Metodologia

Classes de teoria. Els alumnes tindran accés al material docent emprat a través dels dossiers electrònics de la UB.

Avaluació

En el procés d'avaluació es valoraran els diferents aspectes que conformen l'aprenentatge de l'assignatura: coneixement adquirits, assistència i participació en el desenvolupament de l'assignatura. Tot i que per la qualificació final es valoraran majoritàriament els coneixements de l'alumne a través d'un prova de síntesi, les pràctiques de laboratori, el treball no presencial i la presentació oral d'un treball directament relacionat amb el contingut de l'assignatura seran importants per superar amb èxit l'avaluació.

Avaluació única

Es valoraran els coneixements de l'alumne a través d'un prova de síntesi

Distribució horària

Tipus	Hores
Hores de treball dirigit	30
Hores d'aprenentatge autònom	90
Hores presencials	60
Total	180



Fonts d'informació bàsica

Libres

ALBERTS, B. et al. *Molecular Biology of the Cell*. 3a ed. Nova York: Garland Publishing Inc., 1994.

BROWN, T.A. *Genomes*, 2. Bios Scientific Publishers, Wiley-Liss, 1999.

LEWIN, B. *Genes V*. Oxford: Oxford University Press, 1994.

LODISH, H. et al. *Molecular Cell Biology*. 4a ed. Nova York: Freeman and Co., 1999 (Scientific American Books).

MIESFELD, R.L. *Applied Molecular Genetics*. Nova York: Wiley-Liss, 1999.

SETLOW, J. K. *Genetic Engineering. Principles & Methods*. Nova York: Plenum Publishing Corporation,

1994.

STRACHAN, T.; READ, A. P. *Human Molecular Genetics*, 2. 2a ed. Bios Scientific Publishers. Wiley-Liss, 1999.

WATSON, J. D. *Recombinant DNA*. 2a ed. Nova York: Scientific American Books, 1992.

WHITE, B. A. *PCR. Protocols: Current Methods and Applications*. Totowa (Nova Jersey): Humana Press Inc., 1993.

