



**FACULTAT DE
FARMÀCIA**



UNIVERSITAT DE BARCELONA



ENGINYERIA GENÈTICA



**Curs
2008-09**

Ensenyament de Farmàcia



UNIVERSITAT DE BARCELONA



Pla docent de l'assignatura
ENGINYERIA GENÈTICA

Dades generals de l'assignatura

Nom de l'assignatura: Enginyeria Genètica

Codi de l'assignatura: 243056

Curs acadèmic: 2008-2009

Coordinació: PEDRO F. MARRERO GONZALEZ

Departament: Dept. Bioquímica i Biologia Molecular (Farmàcia)

Crèdits: 6



Recomanacions

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

Objectius d'aprenentatge de l'assignatura

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'oferir 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.

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. Programes d'anàlisi 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 quantitatiu 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 clonng.

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 cassets 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 receptores 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 i organització general de l'assignatura

Classes de teoria. Els alumnes tindran accés al material docent emprat a través



dels dossiers electrònics de la UB.

Avaluació acreditativa dels aprenentatges de l'assignatura

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

Fonts d'informació bàsiques de l'assignatura

Llibres

- Alberts, B. [et al.] Molecular biology of the cell. 4th ed. New York [etc.]: Garland; cop. 2002 ⇨
- Alberts, B. Biología molecular de la célula. 4a ed. Barcelona: Omega; 2004 ⇨
- Brown, T.A. Genomes. 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Wiley-Liss, 1999. ⇨
- Lewin, B. Genes V. Oxford: Oxford University Press, 1994. ⇨
- Lodish, H. [et al.] Molecular Cell Biology. 5th ed. New York Freeman 2003 ⇨
- Material d'acompanyament a: ⇨
- Lodish, H. [et al.] Biología celular y molecular. 5a ed. Buenos Aires [etc.]: Médica Panamericana; cop. 2005 ⇨
- Material d'acompanyament a: ⇨
- 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. 2nd 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. ⇨