



FACULTAT DE
FARMÀCIA

0/15



UNIVERSITAT DE BARCELONA

U

B

ENGINYERIA GENÈTICA



Curs
2006-07

Ensenyament de Farmàcia



**ENSENYAMENT DE FARMÀCIA
PLA D'ESTUDIS 2002**

PLA DOCENT – CURS 2006-07

ASSIGNATURA	ENGINYERIA GENÈTICA	
DEPARTAMENT ÀREA DE CONEIXEMENT SEMESTRE DE DOCÈNCIA CRÈDITS (TEÒRICS + PRÀCTICS) TIPUS	Bioquímica i Biologia Molecular Bioquímica i Biologia Molecular 2n cicle / 1r semestre 6 cr. (4,5T + 1,5P) Optativa	
CRÈDITS ECTS	Hores d'activitat presencial	60
	Hores de treball dirigit	5
	Hores d'aprenentatge autònom	90
	Hores d'activitats d'avaluació	3
	Hores totals de treball de l'alumne	158

1. INTRODUCCIÓ

Si bé en els cursos de Bioquímica i Biologia Molecular i Genòmica gran part de l'esforç es concentra en transmetre informació sobre la composició, funció i transformació de les principals molècules que integren els éssers vius, en els cursos d'especialització o avançats es procurarà activar la capacitat dels estudiants en aplicar els coneixements, tècniques i processos de raonament derivats de la Bioquímica, a les diferents opcions del seu futur professional.

2. OBJECTIUS

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.

3. PROGRAMA

Lliçons 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 de anàlisi de seqüència de DNA ó proteïnes. Construcció de molècules híbrides de DNA. Transformació de cèl·lules procarïotes.. 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 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 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

Seminaris

- Tema 1. Sistemes massius de anàlisi de l'expressió gènica (*High throughput Screening*).
- Tema 2. Identificació i estudi dels gens. El projecte genoma humà.
- Tema 3. Mètodes de detecció de mutacions que afecten a gens humans.
- Tema 4. Proteòmica.
- Tema 6. Sistemes utilitzats per l'expressió de proteïnes recombinants.
- Tema 7. Enginyeria metabòlica de la biosíntesi d'isoprenoides en plantes.
- Tema 8. Determinació dels processos de proliferació i mort cel·lular.

- Tema 9. SELEX. Desenvolupament de fàrmacs per mètodes combinatoris.

4. METODOLOGIA

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

5. AVALUACIÓ

L'avaluació dels alumnes es realitzarà a través d'un examen tipus test (preguntes de verdader i fals). A més, s'estimularà als alumnes a la impartició de seminaris que seran valorats individualment per tres professors del Departament.

6. RECOMANACIONS PER CURSAR L'ASSIGNATURA

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

7. BIBLIOGRAFIA I FONTS DOCUMENTALS

- 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., and READ A. P. *Human Molecular Genetics*. 2 Bios Scientific Publishers. Wiley-Liss, 1999. Segunda edició
- 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.

8. COORDINACIÓ I PROFESSORAT

Carmen Caelles

