

ENGINYERIA GENÈTICA AVANÇADA

Tipus d'assignatura: Optativa de segon cicle

Departament responsable: GENÈTICA

Coordinadora: Dra. Ricard Albalat

Distribució temporal: setembre-gener. Un total de 45 hores repartides de la manera següent: 30 hores teòriques més 15 hores de pràctiques.

Codi :135073

Nombre Total de Crèdits: 4,5

OBJECTIUS

Que l'alumne conegui les metodologies avançades d'anàlisi i manipulació genètica aplicades a estudis in vitro, línies cel.lulars i la construcció d'organismes transgènics.

CRITERIS D'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'una prova de síntesi, les pràctiques de laboratori, seran indispensables per superar amb èxit l'avaluació.

PROGRAMA DE TEORIA

Introducció

Tema 1. Expressió heteròloga en microorganismes unicel.lulars: procariotes i llevats. Tipus de sistemes d'expressió: proteïna independent/proteïna de fusió; proteïna citoplasmàtica/proteïna de membrana/secreció. Problemes i solucions de la síntesi de proteïnes recombinants. Altres sistemes d'expressió heteròloga: baculovirus.

Tema 2. Mutagènesi Dirigida: sistemes per rèplica d'heterodúplexs i per PCR i intercanvi de cassette. Sistemes d'expressió i mutagènesi múltiple: llibreries de pèptids i *Phage Display*. Enginyeria de Proteïnes.

Tema 3. El llevat com a organisme model. Caracterització genòmica: el genoma de *S.cerevisiae*. Manipulació genòmica: disruptions, substitucions i delecions gèniques. Estudis de funció: knock-outs i sobre-expressió. Estudis funcionals: Two-Hybrid.

Tema 4. Transferència de gens a cèl.lules animals. Mètodes de transferència: transfecció i cotransfecció. Marcadors de transfecció i de selecció. Expressió transitòria i integració estable. Elements funcionals que s'han d'incloure en els vectors d'expressió. Vectors derivats de SV40. Vectors derivats d'altres virus de DNA. Vectors retrovirals. Retrovirus recombinants: línies cel.lulars productores.

Tema 5. Animals transgènics. Mètodes de transferència de gens a cèl.lules germinals i obtenció de soques transgèniques murines. Expressió dels gens

heteròlegs. Transgènesi mitjançant cèl·lules ES. Gene targeting, integració no específica i integració per recombinació homòloga. Transgènics condicionals. Modificació genètica amb el sistema Cre-LoxP. Transgènesi amb vectors de gran capacitat. Aplicacions dels ratolins transgènics a la ciència bàsica.

Tema 6. Aplicacions biotecnològiques dels transgènics. La transgènesi en la millora animal. Els animals transgènics com a bioreactors per a la síntesi de proteïnes “terapèutiques”. Clonació per transferència nuclear. Factors cel·lulars limitants i canvis epigenètics que limiten l'ús de cèl·lules diferenciades.

Tema 7. Estratègies de teràpia gènica. Vectors virals. Mètodes per insertar un gen en cèl·lules o teixits diana. Mètodes per reparar o inactivar un gen que causa una patologia. Sistemes no virals. Teràpia amb gens suïcides. Els àcids nucleics com agents terapèutics. Exemples de teràpies actuals.

Tema 8. Enginyeria genètica en sistemes vegetals. Cultius vegetals *in vitro*. El plasmidi Ti com a vector. Vectors derivats de Ti. Altres mètodes de transferència de gens a plantes. Selecció de les cèl·lules transfectades i generació de la planta sencera.

Tema 9. Síntesi i aplicacions de variants vegetals transgèniques. Síntesi de soja transgènica resistent a l'acció del glifosat. Síntesi de blat de moro resistent a l'insecte barrenador. Expressió de l'antigen de superfície del virus de l'Hepatitis B en plantes transgèniques. Expressió del gen antisentit de la ACC oxidasa en el tomàquet i el meló. Increment de la producció de cultius de tabac que sobreexpressen fitocroms. Obtenció de variants de *Triticum* que expressen el gen que codifica per a una subunitat de gluteïna.

BIBLIOGRAFIA

Bàsica

GLICK B.R. & PASTERNAK J.J. (2003) *Molecular Biotechnology* 3rd Ed. ASM Press

BROWN, T. A. (2001). *Gene Cloning* (4th. Edition). Blackwell Science.

BROWN, T. A. (1999). *Genomes*. Bios Scientific Publishers.

IZQUIERDO. M. (1999). *Ingeniería Genética y Transferencia Génica*. Ediciones Pirámide.

LEWIN B. (2006). *Essential Genes*. Pearson Education Inc.

PEREA J., TORMO A. & GARCÍA J.L. (2002) *INGENIERÍA GENÉTICA* vol. 1. y vol. 2. Editorial Síntesis.

PRIMROSE, S.B., TWYMAN, R.M. & OLD, R.W. (2001). *Principles of Gene Manipulation* (6th Edition). Blackwell Science.

STRACHAN T. & READ A.P. (2003). *Human Molecular Genetics* 3. Garland Science

WATSON, J.D., GILMAN, M., WITKOWSKI, J. & ZOLLER, M. (1992). *Recombinant DNA* (2nd. edition). Scientific American Books, W. H. Freeman and Co.

WATSON, J.D., BAKER T.A., BELL S.P., GANN A., LEVINE M. & LOSICK R. (2004) *Molecular Biology of the Gene* (3rd. edition). Benjamin Cummings-CSHL Press.

Complementaria

CLELAND, J.L. & CRAICK, C.S., eds. (1996). *Protein Engineering*. Wiley-Liss.

GLOVER, D.M. & HAMES, B.D., eds (1995). *Expression systems: DNA cloning v.2* (2nd edition). The Practical Approach Series. IRL Press.

HENRY, R.J. (1997). *Practical applications of plant molecular biology*. Chapman & Hall.

LATCHMAN, D.S. eds. (1994). *From Genetics to Gene Therapy*. Bios Scientific Publishers.

LINDSEY K. eds. (1998). *Transgenic Plant Research*. Harwood Academic Publishers.

MACKETT, M. & WILLIAMSON, J.D. (1995). *Human Vaccines and Vaccination*. Bios Scientific Publishers

MAULIK, S. & PATEL, S.D. (1997). *Molecular Biotechnology*. Wiley-Liss.

RIGBY, P.W. eds. (1987). *Genetic Engineering 6*. Academic Press.