

# **BIOTECNOLOGIA ANIMAL**

**Tipus d'assignatura:** Optativa

**Departament responsable:** Bioquímica i Biologia Molecular

**Coordinadora:** Anna Gumà / Ricard Albalat

**Distribució temporal:** octubre-gener.

**Codi :**234027

**Nombre Total de Crèdits:** 6

## **OBJECTIUS**

L'objectiu de l'assignatura és presentar a l'alumne el conjunt de tècniques que utilitza animals vius o parts de mamífers amb la finalitat d'obtenir o modificar productes o millorar animals mamífers i les implicacions en l'entorn biomèdic.

## **CRITERIS D'AVUACIÓ**

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, seran indispensables per superar amb èxit l'avaluació.

## **PROGRAMA DE TEORIA**

### **Tema 1. INTRODUCCIÓ A LA BIOTECNOLOGIA ANIMAL**

Definició i objectius. La cèl·lula: una alternativa sostenible a la indústria química. Referent històric de la biotecnologia animal. Principals aplicacions en l'àmbit biomèdic.

### **Tema 2. BASES GENERALS PER AL CULTIU CEL·LULAR**

Característiques i condicions estandarditzades de cultiu cel·lular. Medis de cultiu. Sèrums. Requeriments físics. Patró de creixement de les cèl·lules animals i subcultiu. Influència de les condicions de l'entorn en el fenotip cel·lular. Conservació i emmagatzematge. Criopreservació.

### **Tema 3. CULTIUS PRIMARIS**

Origen del cultiu. Generació de línies cel·lulars a partir de teixits adults. Creixement. Senescència i immortalitat. Inducció de la diferenciació cel·lular.

### **Tema 4. LÍNIES CEL·LULARS TRANSFORMADES**

Característiques d'una cèl·lula transformada. Establiment de línies cel·lulars transformades. Clonatge i aïllament de clons. Origen de les cèl·lules transformades. Cèl·lules transformades amb virus oncogènics. Fusió cel·lular. Identificació i verificació de les línies cel·lulars.

### **Tema 5. FONAMENTS DE LA MANIPULACIÓ GENÈTICA DE CÈL·LULES ANIMALS**

Transferència de DNA a cèl·lules animals. Generalitats. Transfecció transitòria i estable. Etapes limitants en la transferència del DNA. Localització del DNA al nucli. La unitat transcripcional. Elements coadjuvants de la transferència. Gens selectors i marcadors. Elements d'integració. Amplicons i replicons. Tipus de vectors.

### **Tema 6. TÈCNiques DE TRANSFERÈNCIA DE DNA**

Mètodes físico-químics de transferència de DNA. Co-precipitació amb fosfat càlcic. Policones. Microinjecció i microprojectils. Liposomes. Complexes amb proteïnes. Electroporació. Vectors virals. Estratègies d'inhibició de l'expressió gènica. RNA d'interferència.

### **Tema 7. MÈTODES DE PRODUCCIÓ EN CÈL·LULES ANIMALS**

Significat i utilitat. Cultius a gran escala. Bioreactors per a cèl·lules animals. Recuperació de proteïnes. Producció industrial de proteïnes en cultius de cèl·lules de mamífers. Producció de virus per a vacunes humanes. Producció de proteïnes plasmàtiques d'ús terapèutic. Producció d'hormones i citoquines. Producció d'anticossos monoclonals a partir d'hibridomes.

### **Tema 8. MANIPULACIÓ DE L'EXPRESSIÓ GÈNICA EN ORGANISMES: TERÀPIA GÈNICA**

Definició. Patologies diana. Teràpia gènica de línia germinal. Sistemes d'expressió gènica teixit-específic. Utilització de vectors vírics i de liposomes per a la transferència gènica a l'organisme. Estratègies per a la teràpia gènica de malalties genètiques.

### **Tema 9. TRANSGÈNESI ANIMAL I**

Conceptes bàsics. Mètodes d'obtenció d'animals transgènics. Variables i problemes de cada mètode. Animals transgènics amb integració dirigida per recombinació homòloga: *Knockouts* i *Knockins*. Mètodes de selecció de la recombinació homòloga. Disseny experimental per l'obtenció d'un ratolí *Knockout*. Ús del *gene targeting* per l'anàlisi de l'expressió gènica. *Knockouts* condicionals i el sistema Cre-loxP. Altres utilitats del sistema Cre-LoxP: enginyeria cromosòmica i sistemes d'activació i repressió gènica irreversibles. *Knockdowns*: tècniques d'RNAi i morfollinos en animals sencers.

### **Tema 10. TRANSGÈNESI ANIMAL II**

Animals transgènics amb integració no específica. (1) Aplicacions a la ciència bàsica. Anàlisi de la regulació gènica. Anàlisi de sobreexpressió i expressió ectòpica de gens. Sistemes de control de l'expressió. Identificació de nous gens amb tècniques d'enhancer- promotor i gene-traps. Bancs de dades de Gene-trap. (2) Animals transgènics en la recerca aplicada. Models animals de malalties humanes: Malalties monogèniques i malalties multifactorials. Aplicacions biotecnològiques dels transgènics: Els animals transgènics com a bioreactors. Animals modificats genèticament amb valor afegit. Animals transgènics i Xenotransplantaments.

## **SEMINARIS**

1. Aspectes pràctics i aplicacions en cultius cel·lulars i en tècniques de transfecció, transducció i interferència de l'expressió gènica.

2. Noves metodologies: la transcriptòmica.
3. Aplicacions biomèdiques actuals de la Biotecnologia Animal
4. La producció a gran escala de molècules d'interès terapèutic generats per cèl·lules animals.

## **PROGRAMA DE PRÀCTIQUES**

- Cultius de cèl·lules transformades d'origen epitel·lial (HeLa) i d'origen miocític (L6E9). Manteniment i criopreservació.
- Comparativa de diferents tècniques de transfecció dels cultius amb plasmidis que inclouen dos tipus de gens marcadors ( $\beta$ -galactosidasa o EGFP). Anàlisi de l'eficiència de transfecció per detecció dels gens marcadors.
- Visita guiada al Servei de Cultius Cel·lulars de la Facultat de Biologia.
- Familiarització amb la manipulació de línies germinals i producció de ratolins transgènics. Visualització i comentari del vídeo "Transgenic techniques in mice".

## **BIBLIOGRAFIA**

### **Llibres de text**

Adenoviral vector for gene therapy. Curiel, D.T., Douglas, J.T. Academic Press. 2002.

An introduction to molecular medicine and gene therapy. Kresina, T.F. Wiley. 2001.

Animal biotechnology. Ranga, M.M. Agrobios. 2002.

Animal cells as Bioreactors (Cambridge studies in biotechnology). Cartwright, T. Cambridge University Press. 1994.

Animal cell biotechnology. (Volumes 1 – 6). Spier, R.E., Griffiths, J.B. Academic Press London. 1985-1994.

Animal cell biotechnology: methods and protocols (Methods in biotechnology), 1<sup>a</sup> ed. Jenkins, N. Humana Press. 1999

Animal cell culture. Pollard, J.W., Walker, J.M. Humana Press. 1990.

Animal cell culture and technology, 2a. ed. Butler, M. BIOS Science Publ. 2004.

Animal cell technology: basic & applied aspects. Kitagawa, Y. Springer. 1998.

Animal Cell technology: products from cells, cells as products. Bernard, A. Springer. 2000.

Antisense technology: a practical approach. Lichtenstein, C., Nellen, W. Oxford University Press. 1998.

Basic biotechnology. Bullock, J., Kristiansen, B. Academic Press. 1989.

Basic biotechnology, 3a. ed. Ratledge, C., Kristiansen, B. Cambridge University Press. 2006.

Biotechnology (Studies in biology), 4a. ed. Smith, J.E. Cambridge University Press. 2004.

Biotechnology and biopharmaceutical: transforming proteins and genes into drugs. Ho, R., Gibaldi, M. John Wiley & Sons. 2003.

Culture of animal cells: a manual of basic techniques, 5a. ed. Freshney, R.I. Wiley-Liss. 2005.

DNA technology. The awesome skill, 2a ed. Alcamo, I.E. Harcourt Academic Press. 2001.

Gene targeting: A practical approach, Cap. 6: Gene and enhancer trap screens in ES cell chimeras. Gossler, A., Zachgo, J. IRL Press. 1993.

Gene targeting: A practical approach, 2a. ed. Joyner, A.L. Oxford University Press. 2000.

Gene therapy. Lemoine, N.R., Cooper, D.N. Oxford Bios Scientific. 1996.

Gene therapy. Application of molecular biology. Larrick, J.W., Burck, K.L.. Elsevier. 1991.

Gene therapy of cancer, 2a. ed. Lattime, E.C., Gerson, S.L. Academic Press. 2002.

Gene transfer and expression protocols. Murray, E.J. Humana Press, 1991.

Gene Transfer to Animal Cells. Twyman, R.M. Series: BIOS Advanced Methods. Taylor & Francis. 2005.

Genetic manipulation techniques and applications. Grange, J.M., Fox, A., Morgan, N.L. Blackwell Scientific Publications. 1991.

Ingeniería genética y transferencia génica. Izquierdo Rojo, M. Madrid Pirámide Cop. 2001.

Introduction to biotechnology. Brown, C.M., Campbell, I., Priest, F.G. Blackwell Scientific Publication. 1988.

Mammalian cell biotechnology. A practical approach. Butler, M. Oxford University Press. 1991.

Manipulating the mouse embryo. A laboratory manual. Hogan, B., Beddington, R., Lacy, E. Cold Spring Harbor Lab Press. 1994.

Molecular Biology and biotechnology. Smith & Wood. Chapman & Hall. 1991.

Molecular biotechnology, 2a. ed. Primrose, S.B. Blackwell Scientific Publication. 1991.

Molecular biotechnology: principles and applications of recombinant DNA, 3a. ed. Glick, B.R., Pasternak, J.J. American Society Microbiology. 2003.

Molecular biotechnology. Therapeutic applications and strategies. Maulik, S., Patel, S.D. Wiley-Liss. 1997.

Principles of gene manipulation, 6a. ed. Primrose, S.B., Twyman, R.M., Old, R.W. Blackwell Science. 2001.

Transgenic animals. Cap. 4: the study of gene regulation in transgenic mice. Kollias, G., Grosveld, F. Academic Press Ltd. 1992.

Understanding gene therapy. Lemoine, N.R. BIOS Scientific Publishers. 1999.

## **Revisions**

Animal and plant cell technology: A critical evaluation of the technology/society interface. Spier, R.E. J Biotech 65, 111-125, 1998.

Antibacterial vaccine design using genomics and proteomics. Grandi, G. Trends in Biotech. 19, 181, 2001.

Antibiotic peptides from higher eukaryotes: biology and applications. Ganz, T., Lehrer, R.I. Molec. Med. Today, 5, 292, 1999.

Antibody engineering. Maynard, J., Georgiou, G. Annu. Rev. Biomed. Eng. 2, 339-376, 2000.

Antibiotic peptides from higher eukaryotes: biology and applications. Ganz, T., Lehrer, R.I. Molec. Med. Today, 5, 292, 1999.

Antiprogestin-controllable transgene regulation in vivo. Nordstrom, J.L. Curr. Opin. Biotech. 13, 453-458, 2002.

Aplicaciones de microarrays y biochips en la salud humana. Informe de vigilancia tecnológica. Genoma España, Salud humana. 2006.

Applications of quantitative PCR in the biosafety and genetic stability assessment of biotechnology products. Lovatt, A. Rev. Molec. Biotech. 82, 279-300, 2002.

Biopharmaceutical production in transgenic livestock. Rudolph N.S. TIBTECH, 17, 367, 1999.

Bioreactors for hematopoietic cell culture. Nielsen, L.K. Annu. Rev. Biomed. Eng. 1, 129-152, 1999.

Biotechnology – a sustainable alternative for chemical industry. Gavrilescu, M., Chisti, Y. Biotech Adv 23, 471-499, 2005.

Biotecnología aplicada a la identificación y validación de dianas terapéuticas. Informe de vigilancia tecnológica, Genoma España, Salud humana. 2005.

Broadening the approaches to developing more effective vaccines. Babiuk, L.A. Vaccine, 17, 1587-1595, 1999.

Cell-replacement therapy for diabetes: generating functional insulin-producing tissue from adult human liver cells. Sapir, T., Shternhall, K., Meivar-Levy, I., Blumenfeld, T., Cohen, H., Skutelsky, E., Eventov-Friedman, S. et al. PNAS 102, 7964-7969, 2005. (article)

Cloning advances and challenges for conservation. Ryder, O.A. Trends in Biotech. 20, 231, 2002.

Double-stranded RNA as a mediator in sequence-specific genetic silencing and co-suppression. TIG 14, 255-258, 1998.

Duchenne muscular dystrophy and dystrophin: pathogenesis and opportunities for treatment. Nowak, K., Davies, K.E. EMBO reports 5, 872-876, 2004.

Engineering liposomes for drug delivery: progress and problems. Gregoriadis, G. TIBTECH 13, 527, 1995.

Engineering synthetic vectors for improved DNA delivery: Insights from intracellular pathways. Roth, C.M., Sundaram, S. Annu. Rev. Biomed. Eng. 6, 397-426, 2004.

Engineering the mouse genome by site-specific recombination. Mezger, D., Feil, R. Curr. Opin. Biotech. 10, 470-476, 1999.

Gene therapy: safer and virus-free?. Ferber, D. Science 294, 1638, 2001.

Gene therapy strategies to facilitate organ transplantation. Deng, S., Brayman, K.L. Molec. Med. Today, 5, 400, 1999.

Gene therapy using HVJ-liposomes: the best of both worlds? Kaneda, Y., Saeki, Y., Morishita, R. Molec. Med. Today 5, 298, 1999.

Genotipado en la salud humana. Informe de vigilancia tecnológica. Genoma España, Salud humana. 2005.

Harnessing HIV for therapy, basic research and biotechnology. Wiznerowicz, M., Trono, D. Trends in Biotech. 23, 42, 2005.

Hepatitis C virus: current understanding and prospects for future therapies. Rosen, H.R., Gretch, D.R. Molec. Med. Today 5, 393, 1999.

How relevant are mouse models for human diseases to somatic gene therapy. Porteous, D.J., Dorin, J.R. TIBTECH 11, 173-181, 1993.

Impacto de la biotecnología en el sector sanitario, 1er. Informe de prospectiva tecnológica. Genoma España, Salud humana. 2003.

Latest developments and in vivo use of the Tet system: ex vivo and in vivo delivery of tetracycline-regulated genes. Corbel, S.Y., Rossi, F.M.V. Curr. Opin. Biotech. 13, 448-452, 2002.

Metabolic engineering: advances in modelling and intervention in health and disease. Yarmush, M.L. Banta, S. Annu. Rev. Biomed. Eng. 5, 349-381, 2003.

Microarrays y biochips de ADN. Informe de vigilancia tecnológica, Genoma España, Salud humana. 2002.

Nuclear transplantation: lessons from frogs and mice. Hochedlinger, K., Jaenisch, R. Curr. Opin. Cell Biol. 14, 741-48, 2002.

Nucleic acid biotechnology. Roth, C.M., Yarmush, M.L. Annu. Rev. Biomed. Eng. 1, 265-297, 1999.

Plasmid transfection and retroviral transduction of porcine muscle cells for cell-mediated gene transfer. Blanton, Jr. J.R., Bidwell, C.A., Sanders, D.A., Sharkey, C.M., McFarland, D.C., Gerrard, D.E., Grant, A.L. J. Anim. Sci. 78, 909-918, 2000.

Producing proteins in transgenic plants and animals. Larrick, J.W., Thomas, D.W. Curr. Opin. Biotech. 12, 411-418, 2001.

Production of clinical-grade recombinant adeno-associated virus vectors. Snyder, R.O., Flotte, T.R. Curr. Opin. Biotech. 13, 418-423, 2002.

Protein transduction technology. Wadia, J.S., Dowdy, S.F. Curr Opin Biotech 13, 52-56, 2002.

Recent approaches to intracellular delivery of drugs and DNA and organelle targeting. Torchilin, V.P. Annu. Rev. Biomed. Eng. 8, 343-75, 2006.

RNA-triggered gene silencing. Fite, A. TIG 15, 358-363, 1999.

Running interference: prospects and obstacles to using small interfering RNAs as small molecule drugs. Dykxhoorn, D.M., Lieberman, J. Annu. Rev. Biomed. Eng. 8, 377-402, 2006.

Targeted modifications of mammalian genomes. Sorrell, D.A., Kolb, A.F. *Biotech. Adv.* 23, 431-469, 2005.

Telomerase allows the immortalization of antigen-positive DMD myoblasts: a new source of cells for gene transfer application. Seigneurin-Venin, S., Bernard, V., Tremblay, J.P. *Gene Therapy* 7, 619-623, 2000. (article)

Tissue engineering applications of therapeutic cloning. Atala, A., Koh, C.J. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 6, 27-40, 2004.

Tissue engineering with muscle-derived stem cells. Deasy, B.M., Li, Y., Huard, J. *Curr. Opin. Biotech.* 15, 419-423, 2004.

Toward the implementation of metabolomic assessments of human health and nutrition. Watkins, S.M., German, J.B. *Curr. Opin. Biotech.* 13, 512-516, 2002.

Transgene-mediated modifications to animal biochemistry. Ward, K.A. *TIBTECH*, 18, 99, 2000.

Transgenic chickens as bioreactors for protein-based drugs. Lillico, S.G., McGrew, M.J., Sherman, A., Sang, H.M. *Drug Discov. Today*, 10, 191, 2005.

Vacunas de nueva generación. Informe de vigilancia tecnológica. Genoma España, Salud humana. 2004.

Viral vectors for gene transfer. A review of their use in the treatment of human diseases. Walther, W., Stein, U. *Drugs*, 60, 249-271, 2000.

## **Adreces d'internet**

### **Revistes:**

Annual Review of Biochemistry: <http://biochem.annualreviews.org/>

Current Opinión in Biotechnology:

<http://www.sciencedirect.com/science/journal/09581669>

Current Opinion in Chemical Biology:

<http://www.sciencedirect.com/science/journal/13675931>

Human Gene Therapy: [http://www.liebertpub.com/publication.aspx?pub\\_id=19](http://www.liebertpub.com/publication.aspx?pub_id=19)

Nature Biotechnology: <http://www.nature.com/nbt/index.html>

Nature Medicine: <http://www.nature.com/nm/index.html>

Trends in Biotechnology: <http://www.trends.com/tibtech/>

Trends in Molecular Medicine:

<http://www.sciencedirect.com/science/journal/14714914>

### **Altres:**

Genoma España: [http://www.gen-es.org/02\\_cono/02\\_cono.cfm?pag=0310](http://www.gen-es.org/02_cono/02_cono.cfm?pag=0310)