

PRINCIPIS BÀSICS ENGINYERIA GENÈTICA

Tipus d'assignatura: Obligatòria de segon cicle

Departaments responsables: DEP. DE GENÈTICA I DEP. DE MICROBIOLOGIA

Coordinador: Dr. David Bueno

Distribució temporal: octubre-gener. Un total de 30 hores repartides al 50% entre els dos departaments implicats

Codi :135016

Nombre Total de Crèdits: 3

OBJECTIUS

Que l'alumne conegui les tècniques, els elements i els processos mentals bàsics utilitzats en enginyeria genètica.

CRITERIS D'AVUACIÓ

Un examen escrit al final del semestre. L'examen consta de 30 preguntes de resposta múltiple (70% de la nota numèrica final, amb penalització per preguntes errades) i de dues preguntes de resposta en espai limitat (30% de la nota numèrica final). L'examen es supera amb una nota igual o superior a 5 punts sobre un màxim de 10 punts.

PROGRAMA DE TEORIA

Introducció

Tema 1. Enginyeria Genètica: Concepte, objectius i aplicacions. Clonatge de DNA. Construcció de genoteques. Biblioteques genòmiques i de cDNA.

Obtenció i anàlisi del DNA

Tema 2. Aïllament i purificació d'àcids nucleics: Electroforesi d'àcids nucleics.

Tema 3. Digestió i lligació del DNA: Endonucleases de restricció. Mapes de restricció. Mètodes d'enllaç de molècules de DNA. Enzims modificadors d'àcids nucleics

Tema 4. Principals polimerases útils en Enginyeria Genètica. Polimerases de DNA i polimerases de RNA.

Tema 5. Reacció en cadena de la DNA polimerasa (PCR): aplicacions actuals.

Tema 6. Estratègies de marcatge de molècules d'àcid nucleic. Mètodes de detecció de les molècules marcades.

Generació i crivellatge de genoteques

Tema 7. Plasmidis. Vectors de clonatge i d'expressió. Transformació.

Tema 8. Vectors derivats del bacteriòfag lambda. Infecció i empaquetament in vitro.

Tema 9. Estratègies de selecció dels clons recombinants: Complementació fenotípica. Mètodes d'hibridació d'àcids nucleics. Mètodes immunològics.

Caracterització gènica i anàlisi de l'expressió

Tema 10. Hibridació de DNA sobre filtre: transferència de plaques i tècnica de transferència Southern. Paràmetres importants en la hibridació.

Tema 11. Seqüenciació del DNA. Mètode de Sanger. Tècniques actuals de seqüenciació: automatització.

Tema 12. Localització de gens clonats: Hibridacions sobre cromosomes politènics i cromosomes mitòtics. Genoteques ordenades. Localització in silico

Tema 13. Elements d'un gen eucariota. Elements en cis i factors en trans.

Tema 14. Estudi de l'expressió temporal i espacial d'un gen. Detecció del transcrit: transferència Northern, dot blot de RNA i RT-PCR. Hibridació in situ a seccions tissulars i whole mount. Detecció del producte gènic: dot blot de proteïna i transferència Western. Immunodetecció in situ.

Aplicacions de l'enginyeria genètica

Tema 15. Expressió heteròloga de proteïnes. Sistemes d'expressió en bacteris i llevats. Síntesi de proteïnes d'interès industrial i terapèutic.

Tema 16. Mutagènesi dirigida. Tècniques de PCR i solapament. Enginyeria de proteïnes: aplicacions pràctiques.

Tema 17. Animals transgènics i clònics. Plantes transgèniques. Concepte de Teràpia Gènica.

BIBLIOGRAFIA

Bàsica

- BROWN.T.A. (2002) Gene Cloning. An introduction. 4rd Ed. Chapman and Hall, London.
- BROWN, T. A. (1999) Genomes. BIOS Scientific Pub., New York. Capítols 1-4
- GRIFFITHS, A.J.F., GELBART W., MILLET, J.H. & LEWONTIN, R.C. (1999) Modern genetic analysis. W.H. Freeman and Company. New York. Capítols 10 i 11
- IZQUIERDO, M. (2002) Ingeniería Genética. 3ª Ed. Pirámide. Madrid.
- LEÓN SERRANO, J. & GARCÍA LOBO, J.M. (1990) Manual de Genética Molecular. Ed. Síntesis. Madrid.
- LUQUE, J. & HERRÁEZ, A. (2001) Biología Molecular e Ingeniería Genética. Ed. Harcourt.
- OLD, R.W. & PRIMROSE, S.B. (1994) Principles of Gene Manipulation. An Introduction to Genetic Engineering. 5th edition. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- RUSSELL,P.J. (2002) Genetics 6th Ed., Harper Collins College Pub., New York. Capítol 15.
- WATSON,J.D., TOOZE,J. & KURTZ,D.T. (1992) Recombinant DNA. 2nd Ed.Scientific American Books, New York.
- WILLIAMS,J., CECCARELLI,A. & SPURR,N. (1993) Genetic Engineering. Medical Perspectives Series. Bios. Sci. Publ. Oxford.

Opcional

GRINSTED, J. & BENNET, P.M. (eds) (1990) Plasmid Technology. Second Edition. Methods in Microbiology v.21. Academic Press.

SAMBROOK, J., FRITSCH, E.F. & MANIATIS, T. (1989) Molecular Cloning, a laboratory manual. Second Edition. Cold Spring Harbor Lab. Press.

NEWTON, C.R. & GRAHAM, A. (1997) PCR. Springer Verlag.

INNIS, M.A., GELFAND, D.H., SNINSKY, J.J. & WHITE, T.J. (1990) PCR Protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, INC. New York

INNIS, M.A., GELFAND, D.H., SNINSKY, J.J. (1999) PCR Applications: Protocols for Functional Genomics. Academic Press

DIVERSOS AUTORS. (Agost 1997) Informe especial: la terapia gènica. Investigación y Ciencia.

Pàgines web

<http://seg.umh.es> (Sociedad Española de Genética, múltiples links)

<http://esg-www.mit.edu>

<http://schmidel.com/bionet.htm/biotech.htm>