

**GUIA DOCENT D'ENGINYERIA GENÈTICA MOLECULAR
LLICENCIATURA DE BIOTECNOLOGIA
UNIVERSITAT DE LLEIDA**

1. DADES GENERALS D'IDENTIFICACIÓ

Nom de l'assignatura: Enginyeria Genètica Molecular	
Nombre de crèdits Pla 2001: 6	Nombre de crèdits ECTS: 5
Caràcter (troncal T, obligatòria Ob, optativa Op): T	
Titulació: Biotecnologia	Departament: Ciències Mèdiques Bàsiques
Quadrimestre: 1er quadr, 3er curs	Idioma: Català
Pàgina web:	Dossier electrònic (Si/No): Si
Professor coordinador: Eloi Garí	e-mail: eloi.gari@cmb.udl.cat
Altres professors: Neus Colomina	e-mail: neus.colomina@cmb.udl.cat

2. INTRODUCCIÓ A L'ASSIGNATURA

L'assignatura d'enginyeria genètica molecular introdueix a l'alumne en el coneixement de les tècniques i mètodes per a l'aïllament, amplificació i manipulació de gens amb la finalitat d'obtenir organismes d'utilitat en biotecnologia. Aquesta assignatura es troncal i s'ubica en el 3^{er} curs de la llicenciatura de biotecnologia, una vegada l'alumne ha adquirit els coneixements bàsics en biologia cel·lular i molecular, genètica i microbiologia. En el mateix itinerari del 3^{er} curs o en assignatures optatives de 4^t curs, l'alumne estudiarà metodologies de processos de producció, millora, diagnòstic i control de qualitat que necessitaran i complementaran els coneixements adquirits en l'assignatura d'enginyeria genètica.

3. OBJECTIUS

1. Conèixer els conceptes i la terminologia bàsics relacionats amb els processos d'aïllament, amplificació i manipulació de gens.
2. Conèixer les tècniques, metodologies i processos bàsics requerits per identificar, clonar i manipular un gen.
3. Conèixer les particularitats d'interès biotecnològic dels diferents grups d'organismes vius, i especialment dels organismes hoste més habituals en enginyeria genètica.
4. L'alumne ha de ser capaç de dissenyar estratègies de clonatge senzilles.
5. L'alumne ha de ser capaç de decidir entre diferents sistemes d'expressió i organismes hoste segons la finalitat del procés experimental i/o productiu.

4. TEMARI TEÒRIC I PRÀCTIC.

4.1 TEMARI TEÒRIC

Part I. Tecnologia del DNA recombinant.

1- Introducció. Concepte de clonatge. Metodologia. Definició de vector de clonatge. Organismes hoste. Manipulació genètica.

2- DNA recombinant. Degradació d'àcids nucleics. Nucleases. Endonucleases de restricció. Síntesi d'àcids nucleics. Polimerases. Modificació d'àcids nucleics. Lligases. DNA recombinant. Fill-in. Linkers.

3- Aïllament i purificació d'àcids nucleïcs. Lisi cel·lular. Purificació de DNA. Lisi alcalina. Separació de fragments de DNA per electroforesi. Purificació de fragments de DNA. Camp pulsant.

4- Plasmidis i vectors de clonació. Estructura dels plasmidis. Gens de selecció. Multiple cloning site. Replicació i número de còpies. Grups d'incompatibilitat. Mobilització i transferència. Vectors de clonació. Fàsmids, fagèmids i cosmidis. Transposons. Site-specific recombination. Recombinant cloning.

5- Aïllament de gens per PCR. Polimerases termoresistents. Etapes i reacció de la PCR. Disseny de primers. DNA Polimerases, característiques. Eficiència de la PCR. Transcriptasa reversa i RT PCR. PCR clonant. Multiplex PCR.

6- Construcció de genoteques. Construcció de genoteques. Obtenció del DNA genòmic. Obtenció del cDNA. Vectors fàgics. BACs, PACs i YACs. Representativitat de les genoteques.

7- Identificació i localització dels gens clonats. Seqüenciació. Estratègies per a la seqüenciació de genomes. Hibridació. Suports d'hibridació. Tipus i marcatge de sondes. Condicions d'hibridació. Southern Blot. FISH. Síntesi in vitro de RNA. Traducció in vitro.

8- Estudi de l'expressió gènica. Northern blot. Wide genome analysis. Real time PCR. Utilització de gens reporter. Nivells i estabilitat de proteïnes.

9- Manipulació genètica. Forward genetics. Reverse genetics. Error-prone PCR. DNA shuffling. Mutagènesis dirigida. Cassettes d'integració. Gene tagging. Fusió de proteïnes.

Part II. Manipulació i expressió gènica en diferents organismes hoste.

10- Manipulació i expressió gènica en *E. Coli*. Vectors de clonatge en *E.coli*. Selecció dels clons recombinants. Característiques d'un vector d'expressió. Sistemes de promotors induïbles i regulables. Protocols de transformació. Manipulació genètica.

11- Manipulació i expressió en altres bacteris. Vectors d'ampli espectre d'hoste. Conjugació triparental. Minitransposons. Vectors suïcides i integratius. Models d'expressió en gramnegatius. Clonació en grampositius. Sistemes d'expressió en grampositius. Transformació i conjugació en grampositius.

12- Sistemes d'expressió en *S. cerevisiae*. Llevats i fongs. Cicle biològic. Tipus de vectors. Promotors induïbles. Vectors d'expressió. Mètodes de transformació. Manipulació genètica. Exemples en altres llevats i fongs filamentosos.

13- Sistemes d'expressió en cèl·lules animals. Baculovirus i cèl·lules d'insecte. Models d'expressió en cèl·lules de mamífer. Promotors i marcadors fenotípics. Sistema tet on/off. Protocols de transfecció. Vectors virals. Retrovirus i lentivirus.

14- Manipulació genètica en cèl·lules animals. RNA d'interferència. Knock out. KO condicional. Knock in. Transgènics. Teràpia gènica.

15- Producció de proteïnes heteròlogues. Condicions de màxima expressió i producció. Estabilitat plasmídica. Codon usage. Promotors regulables. Glicosilació. Amplificació gènica. Purificació de la proteïna. Vectors de secreció. Síntesi de proteïnes de fusió. Producció en animals transgènics.

4.2 TEMARI PRÀCTIC

- Laboratori de pràctiques

Clonatge d'un gen. És una pràctica que integra les diferents tècniques i etapes per fer un clonatge: 1- digestió del vector i l'insert, 2- visualització de les reaccions per electroforesi en gel d'agarosa, 3- purificació del vector i aïllament de l'insert d'un gel d'agarosa, 4- reacció de lligació i 5- transformació en *E. coli*. Detecció dels clons en plaques selectives amb Xgal.

- Problemes

1-Quantificació d'àcids nucleics. Càlcul de la concentració d'àcids nucleics

2-Disseny de clonatges. Donat diferents gens i vectors dissenyar les reaccions de digestió i lligatge del DNA. Adoptar en cada cas la millor estratègia.

3-Disseny de primers. Dissenyar primers per amplificació de gens. Càlculs de la temperatura de fusió i d'aparellament. Condicions de la PCR.

4-Estratègies de mutagènesi dirigida. Aprenentatge del disseny de primers per produir diferents tipus de mutacions.

5. PLANIFICACIÓ TEMPORAL

TEO: teoria PRO: problemes PLB: pràctiques de laboratori

Tipus Activitat	Descripció resumida de l'activitat (Títol de tema o activitat pràctica)	Dedicació (hores)	Setmana	Objectiu Formatiu
TEO	1- Introducció	1	1	1
TEO	2- DNA recombinant	3	1	1,2,4
TEO	3- Aïllament i purificació d'àcids nucleics.	2	2	1,2
TEO	4- Plasmidis i vectors de clonació	3	2,3	1,2,4
TEO	5- Aïllament de gens per PCR	2	3	1,2
TEO	6- Construcció de genoteques	2	3,4	1,2
TEO	7- Identificació dels gens clonats	3	4	1,2
TEO	8- Estudi de l'expressió gènica	2	5	1,2
TEO	9- Manipulació genètica	3	5,6	1,2
TEO	10-Manipulació i expressió gènica en <i>E. Coli</i>	2	6,7	3,5
TEO	11-Manipulació i expressió en altres bacteris	2	7,8	3,5
TEO	12- Sistemes d'expressió en <i>S.cerevisiae</i> . Llevats i fongs.	2	8	3,5
TEO	13- Sistemes d'expressió en cèl·lules animals	3	9	3,5
TEO	14- Manipulació genètica en cèl·lules animals	3	10	3,5
TEO	15- Producció de proteïnes heteròlogues	3	11	3,5
PRO	P.1 Quantificació d'àcids nucleics	2	12	2
PRO	P.2 Disseny de clonatges	3	13	4
PRO	P.3 Disseny de primers	3	13,14	5
PRO	P.4 Estratègies de mutagènesi dirigida	2	14	1,2
PLB	Clonatge d'un gen	14	4,5,6,7	1,2,4,5

* Les pràctiques de laboratori es donaran en dos grups de màxim 20 alumnes. Els primer grup serà la setmana 8 i el segon la 9. Les hores només es compten una vegada.

6. BIBLIOGRAFIA DE REFERÈNCIA

Bàsica:

- “**Molecular Biotechnology**” 3^a Edició. 2003. BR. GLICK, JJ. PASTERNAK. ASM Press.
- “**Principles of Gene Manipulation**” 6^a Edició. 2001. SB. PRIMROSE, RM. TWYMAN, RW. OLD. Blackwell Science Publishers.
- “**Gene Cloning and DNA analysis. An Introduction**” 4^a Edició. 2001. TA. BROWN. Blackwell Science Publishers.
- “**Ingeniería Genética y Transferencia Génica**” 1^a Edició. 1999. M. IZQUIERDO ROJO. Ed. Pirámide.
- “**Ingeniería Genética. Vol I i II**” 1^a Edició. 2002. J. PERERA, A. TORMO i JL. GARCIA. Ed. Síntesis

Complementària:

- “**Current Protocols in Molecular Biology**” Edició en CD rom. 2006. John Wiley Press.
- “**Molecular Cloning. A Laboratory Manual**” 3^a Edició. 2001. J. SAMBROOK, DW. RUSSELL. CSHL Press.
- “**Biotechnologie**” 5^a Edició. 1999. R. SCRIBAN (coord). Ed. Tec&Doc.
- “**DNA Science. A First Course.**” 2^a Edició. 2003. DA. MICKLOS, GA FREYER. CSHL Press.
- “**Genes VIII**” 8^a Edició. 2004. B. LEWIN. Prentice Hall.

7. METODOLOGIA.

El desenvolupament de l'assignatura s'estructura bàsicament en classes teòriques, de problemes i casos, i pràctiques de laboratori. En les classes de problemes i casos es simularan procediments i situacions experimentals que l'alumne haurà de solucionar. Les pràctiques de laboratori són obligatòries i per tant imprescindibles per poder aprovar l'assignatura. Es faran de forma intensiva durant una setmana en grups màxim de 10 alumnes (4 grups)..

8. AVALUACIÓ DE L'APRENTATGE.

L'aprenentatge s'avaluarà mitjançant un examen escrit. El 70% de les preguntes seran de la part teòrica i el 30% restant seran problemes corresponents a la matèria estudiada en pràctiques i problemes. Per superar l'avaluació es imprescindible que es compleixin dos requisits: 1) haver realitzat les pràctiques de laboratori i 2) treure com a mínim un 5/10 en la nota global.

9. VOLUM DE TREBALL. (veure taula 1.)

TAULA 1. VOLUM DE TREBALL PREVIST PEL PROFESSOR
 ASSIGNATURA: **Enginyeria Genètica Molecular**

Crèdits ECTS: **5**

	Descripció Tècnica	Activitat presencial Alumne		Activitat no presencial Alumne		Avaluació			Temps total (hores)	ECTS
		Objectius	Hores dedicació	Treball alumne	Hores dedicació	Procediment	Temps (hores)	Pes qualificació (%)		
Teoria	Classe magistral (Aula)	Explicació dels principals conceptes	36	Estudi: Conèixer, comprendre i sintetitzar coneixements	54	Proves escrites sobre la teoria del programa de l'assignatura	1.2	60	91.2	3.0
Problemes i casos	Classe participativa (Aula)	Resolució de problemes i casos	10	Aprendre a resoldre problemes i casos	20	Proves escrites sobre problemes i casos explicats a l'Aula	0.7	35	30.7	1.1
Seminari	Classe participativa (Grups reduïts)	Realització d'activitats de discussió o aplicació		Resoldre problemes i casos. Discussions		Proves escrites o orals				
Laboratori	Pràctica de Laboratori (Grups reduïts)	Execució de la pràctica: com prendre fenòmens, mesurar	14	Estudi: Sintetitzar coneixements	14	Proves escrites o orals	0.1	5	28.1	0.9
Aula d'informàtica	Pràctica d'aula d'informàtica (Grups reduïts)	Execució de la pràctica: comprendre fenòmens, mesurar		Realitzar memòria		Lliurament de memòries. Proves escrites o orals				
Pràctiques de camp	Pràctica de camp	Execució de la pràctica: comprendre fenòmens, mesurar		Realitzar memòria		Lliurament de memòries. Proves escrites o orals				
Visites	Visita a explotacions o indústries	Realització de la visita		Realitzar memòria		Lliurament de memòries. Proves escrites o orals				
Activitats dirigides	Treball de l'alumne (Grups reduïts)	Orientar a l'alumne en el treball (en horari de tutories)		Realitzar un treball bibliogràfic, pràctic, etc.		Lliurament de memòries. Proves escrites o orals				
Totals			60		88		2		150	5

TAULA 2. VOLUM DE TREBALL I DEDICACIÓ REAL DE L'ESTUDIANT

ASSIGNATURA: **Enginyeria Genètica Molecular**

Data	Setmana 1		Setmana 2		Setmana 3		Setmana 4		Setmana 5		Setmana 6		Setmana 7		Setmana 8		Setmana 9		Setmana 10		Setmana 11	
	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP
Teoria	4	7	4	7	4	7	4	7	3	5.5	3	5.5	2	3.5	3	5.5	3	5	3	5	3	5
Problemes																						
Seminari																						
Laboratori							14	10	14	10	14	10	14	10								
Aula informàtica																						
Pràctiques de camp																						
Visites																						
Activitats																						
	Setmana 12		Setmana 13		Setmana 14		Setmana 15		Setmana 16		Setmana 17		Setmana 18		Setmana 19		Setmana 20		Setmana 21		TOTAL	
	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP
Teoria																					36	63
Problemes	2	3	4	6	4	6															10	15
Seminari																						
Laboratori																					14	10
Aula informàtica																						
Pràctiques de camp																						
Visites																						
Activitats																						
* Les pràctiques de laboratori es donaran en grups de màxim 10 alumnes. Els primer grup serà la setmana 8, el segon la 9, el tercer la 10 i el quart la 11 . Les hores només es compten una vegada.																				60	88	
P: Nombre d'hores Presencials a classe de teoria, pràctiques, etc..																						
NP: Nombre d'hores de Treball No Presencials.																						

Tabla 3.- FITXA TÈCNICA ASSIGNATURA: **Enginyeria Genètica Molecular**

Nom de l'assignatura: Enginyeria Genètica Molecular	
Número de crèdits Pla 2001: 6	Número de crèdits ECTS: 5
Caràcter (troncal T, obligatoria Ob, optativa Op): T	
Titulació: Biotecnologia	Departament: Ciències Mèdiques Bàsiques
Quadrimestre: 1^{er} 3^{er} curs	Idioma: Català
Pàgina web:	Dossier electrònic (Si/No): Si
Professor coordinador: Eloi Garí	e-mail: eloi.gari@cmb.udl.cat
Altres professors: Neus Colomina	e-mail: neus.colomina@cmb.udl.cat

OBJECTIUS (màxim 3 línies)
L'assignatura d'enginyeria genètica molecular introdueix a l'alumne en el coneixement de les tècniques i mètodes per a l'aïllament, amplificació i manipulació de gens amb la finalitat d'obtenir organismes d'utilitat en biotecnologia.

METODOLOGIA DOCENT (abreujada, màxim 4 línies))
El desenvolupament de l'assignatura s'estructura bàsicament en classes teòriques, de problemes i casos, i pràctiques de laboratori. En les classes de problemes i casos es simularan procediments i problemes experimentals que l'alumne haurà de solucionar.

METODOLOGIA D'AVALUACIÓN (ponderació activitats)
Examen escrit tipus test i problemes. La ponderació és: classes teòriques 70%, problemes i casos 25%, pràctiques 5%.

PROGRAMA DE CONTINGUT
Teòric (Posar només títol dels temes)

- 1- Introducció.
- 2- DNA recombinant.
- 3- Aïllament i purificació d'àcids nucleics.
- 4- Plasmidis i vectors de clonació.
- 5- Aïllament de gens per PCR.
- 6- Construcció de genoteques.
- 7- Identificació dels gens clonats.
- 8- Estudi de l'expressió gènica.
- 9- Manipulació genètica.
- 10- Manipulació i expressió gènica en E. Coli.
- 11- Manipulació i expressió en altres bacteris.
- 12- Sistemes d'expressió en S.cerevisiae. Llevats i fongs
- 13- Sistemes d'expressió en cèl·lules animals.
- 14- Manipulació genètica en cèl·lules animals.
- 15- Producció de proteïnes heteròlogues.

Pràctic (Posar només els grans grups i tipus d'activitat)
Es farà una pràctica integrada, el clonatge d'un gen, que agrupa totes les tècniques i etapes necessàries per fer una clonació. Com activitat dirigida es proposa a partir de les pràctiques el realitzar una llibreta de laboratori per aprendre a utilitzar el llenguatge tècnic per la descripció d'un clonatge. Classes de problemes per que l'alumne aprengui a utilitzar i dissenyar estratègies: quantificació d'àcids nucleics, disseny de primers, disseny de clonatges, i mutagènesi dirigida.

OBSERVACIONS

